SPE 1/RM/35 – Décembre 1998
Section de l'élaboration et de l'application des méthodes
Centre de technologie environnementale
Environnement Canada

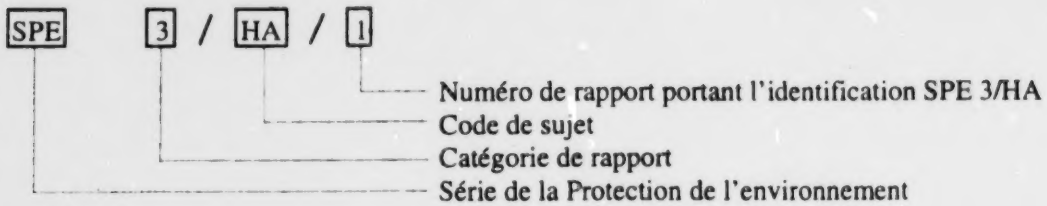
Méthode d'essai biologique: méthode de référence pour la détermination de la létalité aiguë d'un sédiment pour des amphipodes marins ou estuariens

Environment Canada Environnement Canada

Canada

SÉRIE DE LA PROTECTION DE L'ENVIRONNEMENT

Exemple de numérotation :



Catégories

1 Règlements/Lignes directrices/ Codes de pratiques
2 Évaluation des problèmes et options de contrôle
3 Recherche et développement technologique
4 Revues de la documentation
5 Inventaires, examens et enquêtes
6 Évaluations des impacts sociaux, économiques et environnementaux
7 Surveillance
8 Propositions, analyses et énoncés de principes généraux
9 Guides

Sujets

AG Agriculture
AN Technologie anaérobie
AP Pollution atmosphérique
AT Toxicité aquatique
CC Produits chimiques commerciaux
CE Consommateurs et environnement
CI Industries chimiques
FA Activités fédérales
FP Traitement des aliments
HA Déchets dangereux
IC Produits chimiques inorganiques
MA Pollution marine
MM Exploitation minière et traitement des minéraux
NR Régions nordiques et rurales
PF Papier et fibres
PG Production d'électricité
PN Pétrole et gaz naturel
RA Réfrigération et conditionnement d'air
RM Méthodes de référence
SF Traitement des surfaces
SP Déversements de pétrole et de produits chimiques
SRM Méthodes de référence normalisées
TS Transports
TX Textiles
UP Pollution urbaine
WP Protection et préservation du bois

Des sujets et des codes additionnels sont ajoutés au besoin. On peut obtenir une liste des publications de la SPE en s'adressant aux Publications de la Protection de l'environnement, Conservation et Protection, Environnement Canada, Ottawa (Ontario) K1A 0H3.

Méthode d'essai biologique : méthode de référence pour la détermination de la létalité aiguë d'un sédiment pour des amphipodes marins ou estuariens

Section de l'élaboration et de l'application des méthodes
Centre de technologie environnementale
Environnement Canada
Ottawa, Ontario

Méthode de référence SPE 1/RM/35
Décembre 1998

Données de catalogage avant publication (Canada)

Vedette principale au titre :

Méthode d'essai biologique : méthode de référence pour la détermination de la létalité aiguë d'un sédiment pour des amphipodes marins ou estuariens

(Rapport ; SPE 1/RM/35)
Publ. aussi en anglais sous le titre : Biological test method, reference method for determining acute lethality of sediment to marine estuarine amphipods.
Comprend des références bibliographiques.
ISBN 0-660-96143-1
N° de cat. En49-24/1-35F

1. Amphipodes -- Toxicologie.
2. Hydrobiologie -- Aspect de l'environnement.
3. Sédiments des estuaires -- Toxicologie -- Canada.
I. Centre de technologie environnementale (Canada). Section de l'élaboration et de l'application des méthodes.
II. Canada. Environnement Canada.
III. Coll. : Rapport d'information (Canada. Environnement Canada) : SPE 1/RM/35

QL444.B56 1999 595.3'78 C99-980172-4

© Ministre de Travaux publics et Services gouvernementaux 1998

102-04811/

Commentaires

Adresser les commentaires sur la teneur du présent rapport à :

Richard Scroggins
Section de l'élaboration et de l'application des méthodes
Centre de technologie environnementale
Environnement Canada
3439, River Road South
Gloucester (Ontario)
K1A 0H3

This publication is also available in English from :

Environmental Protection Publications
Environment Canada
Ottawa, Ontario
K1A 0H3

Avis de révision

Le présent document a été révisé par le personnel de la Direction générale de l'avancement des technologies environnementales d'Environnement Canada, et sa publication a été autorisée. La mention d'appellations commerciales ou de produits offerts sur le marché ne constitue pas une recommandation d'Environnement Canada. Il existe d'autres produits de valeur semblable.

Résumé

Le présent rapport décrit une méthode de référence pour la mesure de la toxicité létale aiguë d'un sédiment entier contaminé pour les amphipodes marins ou estuariens. Il donne des instructions explicites pour l'exécution d'un essai d'une durée de 10 jours, en conditions statiques, au laboratoire, à l'aide d'échantillons de sédiment estuarien ou marin, en employant l'une ou plusieurs des espèces suivantes de crustacés amphipodes : Rhepoxynius abronius, Eohaustorius washingtonianus, Eohaustorius estuarius *et* Amphiporeia virginiana.

*La méthode de référence s'inspire de la méthode biologique générale (*Méthode d'essai biologique : essai de toxicité aiguë de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens, *publiée par Environnement Canada (1992 ; SPE 1/RM/26). Elle est destinée à l'examen d'échantillons de sédiments marins ou estuariens contaminés.*

Le rapport énonce les conditions et les modes opératoires précis qui doivent présider à l'obtention, à l'expédition, à la conservation et à l'acclimatation des organismes d'essai ; les conditions et les modes opératoires acceptables de transport, d'entreposage et de manipulation des échantillons de sédiment à utiliser dans l'essai ; les analyses physico-chimiques exigées pour le sédiment et l'eau ; les conditions et les modes opératoires à respecter au cours des préparatifs et de la réalisation de l'essai ; les critères d'acceptabilité de l'essai et de validité des résultats ; les mesures et observations à faire ; l'analyse nécessaire ou recommandée des données ; des orientations pour l'interprétation des résultats de l'essai ; les exigences minimales sur les rapports à produire. On y trouvera aussi des instructions sur l'emploi de toxiques de référence.

Abstract

A reference method for measuring the acute lethal toxicity of contaminated whole sediment to marine or estuarine amphipods is described in this report. Explicit instructions are provided for performing a static, 10-day lethality test in the laboratory, using samples of estuarine or marine sediment and one or more of the following species of amphipod crustaceans: Rhepoxynius abronius, Eohaustorius washingtonianus, Eohaustorius estuarius, *and* Amphiporeia virginiana.

This reference method follows and is built upon the generic (multipurpose) biological test method "Acute Test for Sediment Toxicity Using Marine or Estuarine Amphipods" published previously by Environment Canada (1992; EPS 1/RM/26). It is intended for use with samples of contaminated marine or estuarine sediment.

Specific conditions and procedures are stipulated that include instructions on obtaining, shipping, holding, and acclimating test organisms; acceptable procedures and conditions for transporting, storing, and manipulating samples of sediment to be used in the test; required physicochemical analyses of sediment and water; procedures and conditions to be followed in preparing for and conducting the test; criteria for acceptable performance and valid test results; measurements and observations to be made; required or recommended data analyses; guidance for interpreting test results; and minimum reporting requirements. Instructions on the use of reference toxicity tests are also provided.

Avant-propos

La présente méthode fait partie d'une série de ***méthodes recommandées*** *pour mesurer et évaluer les effets biologiques des substances et matières toxiques dans le milieu aquatique. Ces méthodes ont été évaluées par Environnement Canada (EC), et on en favorise l'emploi :*

- *pour la mesure de la toxicité en milieu aquatique dans les laboratoires d'Environnement Canada ;*
- *pour les essais impartis par Environnement Canada ou demandés à l'industrie et aux organismes de l'extérieur ;*
- *dans les cas où on ne possède pas d'instructions plus précises, comme celles que prévoient les règlements ;*
- *comme base d'instructions très explicites, comme celles qui pourraient être exigées dans un protocole réglementaire ou dans une méthode normalisée de référence.*

Les différents types d'essais de cette série en font partie parce qu'ils étaient acceptables aux fins des programmes de protection et de gestion de l'environnement mis en œuvre par Environnement Canada. Les rapports qui leur sont consacrés visent à orienter et à faciliter l'emploi de méthodes cohérentes, convenables et exhaustives pour l'obtention de données sur la toxicité, pour les formes de vie aquatiques, de substances et de matières précises qui se trouvent dans le milieu aquatique ou qui sont destinées à y aboutir. Selon la méthode choisie, ces substances ou matières pourraient englober les échantillons d'un produit chimique ou d'une substance chimique, d'un effluent, d'un élutriat, d'un lixiviat, d'une eau réceptrice ou, encore, s'il y a lieu d'un sédiment ou d'une matière particulaire semblable.

Table des matières

Résumé v
Abstract vi
Avant-propos vii
Liste des tableaux xii
Terminologie xiii
Remerciements xviii

Section 1
Introduction 1

Section 2
Organismes d'essai 2
2.1 Sélection des espèces 2
2.2 Stade du cycle biologique, taille, source 2
2.3 Prélèvement, manipulation et transport 3
2.4 Conservation et acclimatation 3
2.5 Sélection des organismes d'essai 5
2.6 Limites spécifiques d'emploi 5

Section 3
Installations, équipement et fournitures 6

Section 4
Mode opératoire de l'essai du sédiment 7
4.1 Prélèvement des échantillons 7
4.2 Étiquetage, transport et entreposage des échantillons 8
4.3 Manipulation et caractérisation des échantillons 9
4.4 Eau d'essai 11
4.5 Conditions de l'essai 11
4.6 Critères de validité de l'essai 12
4.7 Mise en route de l'essai 12
4.8 Mesures et observations 14
4.9 Fin de l'essai 15
4.10 Paramètres ultimes de mesure et calculs 16

Section 5
Mode opératoire de l'essai d'un toxique de référence 17

Section 6
Analyse et interprétation des données 21

6.1 Analyse des données 21
6.2 Interprétation des résultats 23

Section 7
Rapports à produire 26
7.1 Exigences minimales pour le procès-verbal de l'essai 27
7.1.1 Matière d'essai 27
7.1.2 Organismes d'essai 27
7.1.3 Installations 27
7.1.4 Eau d'essai 27
7.1.5 Méthode d'essai 27
7.1.6 Conditions expérimentales et modes opératoires 27
7.1.7 Résultats 28
7.2 Exigences supplémentaires 28
7.2.1 Matière d'essai 28
7.2.2 Organismes d'essai 28
7.2.3 Installations et appareillage expérimentaux 29
7.2.4 Eau d'essai 29
7.2.5 Méthode d'essai 29
7.2.6 Conditions expérimentales et modes opératoires 29
7.2.7 Résultats des essais 30

Travaux cités 31

Annexe A
Membres du Groupe intergouvernemental de la toxicité aquatique (octobre 1998) 35

Annexe B
Adresses de l'administration centrale et des bureaux régionaux du Service de la protection de l'environnement d'Environnement Canada 37

Annexe C
Membres du Groupe consultatif scientifique 38

Annexe D
***Rhepoxynius abronius* — Limites connues de tolérance et d'utilisation** 40

Annexe E
***Eohaustorius washingtonianus* — Limites connues de tolérance et d'emploi** 46

Annexe F
***Eohaustorius estuarius* —**
Limites connues de tolérance et d'emploi 51

Annexe G
***Amphiporeia virginiana* —**
Limites connues de tolérance et d'emploi 56

Liste des tableaux

1. — Limites spécifiques d'emploi de la méthode de référence 5

Terminologie

Les définitions qui suivent s'inscrivent dans le contexte du présent rapport. Les définitions supplémentaires que l'on trouve dans le document complémentaire détaillé (Environnement Canada, 1992 ; y compris les modifications d'octobre 1998) s'appliquent également.

Verbes auxiliaires

L'auxiliaire *doit (doivent)* exprime une obligation absolue.

L'auxiliaire *devrait (devraient)* et le conditionnel d'obligation (il faudrait), expriment une recommandation ou la nécessité de respecter dans la mesure du possible la condition ou la méthode.

L'auxiliaire *peut (peuvent)* autorise une action.

L'auxiliaire *pourrait (pourraient)* indique la possibilité ou l'éventualité.

Termes techniques généraux

acclimatation, adaptation physiologique à une valeur précise d'une ou de plusieurs variables environnementales, par exemple la température. S'applique généralement à des conditions contrôlées en laboratoire.

conformité, respect des exigences officielles des règlements ou des permis.

estuarienne, se dit d'une eau qui, provenant d'une région côtière de l'océan, est diluée de façon mesurable par de l'eau douce d'origine continentale.

marine, se dit d'une eau qui se trouve dans la mer ou qui provient de la mer ou de la proximité de la côte, mais qui n'a pas subi de dilution appréciable par l'eau douce naturelle d'origine continentale.

photopériode, durée quotidienne de la période d'éclairement.

prétraitement, traitement d'un échantillon de sédiment ou d'une partie de cet échantillon, avant d'y exposer les organismes d'essai.

surveillance, vérification de la qualité ou collecte et communication des données, effectuées de façon régulière (p. ex. quotidienne, hebdomadaire, mensuelle ou trimestrielle). Dans le présent rapport, s'applique à certaines variables

biologiques ou à des variables relatives à la qualité de l'eau ou au prélèvement d'échantillons de sédiments et à la mesure de leur toxicité.

Terminologie des substances ou matières d'essai

déblais de dragage, sédiment et/ou déchet formé de particules, déposé au fond de l'eau (p. ex. provenant du fond de l'eau d'un port ou d'un chenal), dragué ou dont on envisage le dragage et l'immersion ultérieure en mer.

eau d'essai, eau recouvrant la couche de sédiment dans les enceintes expérimentales, c'est-à-dire l'*eau surnageante*. Désigne également l'eau servant à manipuler le sédiment, au besoin (p. ex. pour le tamisage hydraulique du sédiment témoin ou le tamisage du contenu de chaque enceinte expérimentale à la fin de l'essai) et l'eau servant de témoin et à la dilution pour les essais n'*utilisant que de l'eau* avec un toxique de référence.

eau de porosité (dite aussi *interstitielle*), eau occupant l'espace entre les particules d'un sédiment.

eau surnageante, eau recouvrant le sédiment de l'enceinte expérimentale, d'un vivier ou d'une enceinte d'acclimatation.

eau témoin ou de dilution, eau servant à la préparation d'une série de solutions filles d'un produit chimique d'essai, ou servant de surnageant dans un essai toxicologique portant sur un sédiment ou servant d'eau témoin dans un essai n'*utilisant que de l'eau* et un toxique de référence. Est souvent identique à l'eau (surnageante) d'essai.

essai toxicologique de référence, essai utilisant un toxique de référence dans le cadre d'un essai de mesure de la toxicité d'un sédiment, afin de se faire une idée de la sensibilité des organismes ainsi que de la précision et de la fiabilité des résultats obtenus par le laboratoire au moment de l'évaluation de la matière d'essai. Si les résultats s'écartent d'un intervalle normal établi, cela signifie que la sensibilité des organismes ainsi que la performance et la précision de l'essai sont douteuses. L'essai toxicologique de référence avec des amphipodes marins ou estuariens est très souvent exécuté en l'absence de sédiment (c'est-à-dire *dans l'eau seulement*).

sédiment, **1.** Dépôt naturel sur le fond de la mer, formé de particules qui ont été transportées par l'eau. — **2.** Substrat préparé de façon expérimentale au

moyen de matières particulaires choisies (p. ex. sable d'une granulométrie donnée, bentonite, etc.), dans lequel les organismes d'essai peuvent fouir.

sédiment contaminé, sédiment renfermant des concentrations de substances chimiques posant une menace connue ou potentielle pour la santé de l'environnement ou celle de l'homme.

sédiment de référence, échantillon, prélevé sur le terrain, de sédiment vraisemblablement *non contaminé*, choisi pour ses propriétés (p. ex. granulométrie, densité et teneur en matières organiques totales) très semblables à celles de l'échantillon ou des échantillons du ou des sédiments d'essai, sauf pour ce qui concerne la teneur en contaminants chimiques. Il est souvent prélevé en un endroit presque totalement à l'abri de la source ou des sources de contamination, mais dans les parages du lieu de prélèvement des échantillons du sédiment d'essai.

sédiment d'essai, échantillon de sédiment entier, prélevé sur le terrain, dans un endroit que l'on croit contaminé par un ou plusieurs produits chimiques, que l'on se propose d'utiliser dans des essais toxicologiques employant des amphipodes. Parfois, l'expression englobe tout échantillon entier (y compris un sédiment témoin, un sédiment de référence ou des déblais de dragage) utilisé dans l'essai.

sédiment entier, sédiment intact auquel on expose les organismes d'essai ; ce n'est ni une forme ni un dérivé du sédiment tel que l'eau de porosité ni un sédiment remis en suspension.

sédiment non contaminé, sédiment qui ne contient pas de concentration de substance(s) pouvant causer des désordres observables chez les organismes d'essai ou abréger leur survie durant l'essai.

sédiment témoin, sédiment *non contaminé* par des concentrations d'un ou de plusieurs contaminants qui pourraient influer sur la survie ou le comportement des organismes d'essai. Ce pourrait être un sédiment naturel provenant d'un endroit non contaminé ou un sédiment reconstitué. Il ne doit être additionné d'aucune matière ou substance d'essai et doit permettre une survie acceptable des organismes d'essai. Grâce à lui, on peut interpréter les résultats des essais toxicologiques portant sur un ou des sédiments.

solution mère, solution concentrée de la substance à soumettre à l'essai. On ajoute des volumes mesurés de la solution mère à de l'eau de dilution afin de préparer les solutions filles aux concentrations voulues.

substance, type particulier de matière possédant des propriétés plus ou moins uniformes.

toxique de référence, produit chimique étalon servant à mesurer la sensibilité des organismes d'essai, afin d'établir le degré de confiance dans les résultats des essais toxicologiques portant sur une matière ou une substance d'essai. Dans la plupart des cas, l'essai employant un toxique de référence sert à évaluer la sensibilité des organismes au moment de l'évaluation de la matière ou de la substance ainsi que la précision et la fiabilité des résultats obtenus par le laboratoire à l'égard de ce produit.

Terminologie statistique et toxicologique

aigu, qui se manifeste dans une courte période (de quelques secondes, minutes, heures ou jours) relativement à la durée de vie de l'organisme d'essai.

CL 50, voir *concentration létale médiane*.

concentration létale médiane (CL 50), concentration de substance ou de matière dans le sédiment (p. ex. en mg/kg) ou dans l'eau (p. ex. en mg/L) que l'on estime mortelle pour 50 % des organismes d'essai. La CL 50 et ses limites de confiance à 95 % découlent habituellement de l'analyse statistique du taux de mortalité observé à au moins cinq concentrations, après une période fixe d'exposition. On doit préciser la durée d'exposition (p. ex. CL 50 après 96 h, dans un essai toxicologique de référence *avec de l'eau seulement*, ou CL 50 après 10 j, dans un essai employant des amphipodes marins ou estuariens pour mesurer la toxicité d'un sédiment).

en conditions statiques, se dit des essais toxicologiques pendant lesquels on ne remplace pas les solutions d'essai ou l'eau surnageante.

essai toxicologique, opération visant à déterminer l'effet d'une matière (p. ex. sédiment dragué) ou d'une substance (p. ex. un toxique de référence) sur un groupe d'organismes d'une espèce choisie (p. ex. *Eohaustorius estuarius*), dans des conditions précises. En milieu aquatique, l'essai toxicologique mesure habituellement soit : *a*) la proportion d'organismes touchés (*essai quantique* ; p. ex. le taux de survie) ; soit *b*) le degré de l'effet observé (*essai quantitatif* ou *gradué*), après exposition à une matière ou à une substance donnée d'essai.

létal, qui cause directement la mort. Chez les amphipodes, la mort est l'interruption de tous les signes visibles de mouvement et d'activité (p. ex. absence de contraction d'un pléopode).

létalité, caractère de ce qui est létal, c'est-à-dire mortel.

paramètre (ultime) de mesure, **1.** Variable (temps, réaction des organismes, etc.) indiquant la fin de l'essai. — **2.** Mesure(s) ou valeur(s) dérivée(s) caractérisant les résultats de l'essai (p. ex. le pourcentage moyen de survie, la CL 50).

témoin, au cours d'une enquête ou d'une étude, variante reproduisant l'ensemble des conditions et facteurs qui pourraient influer sur les résultats, sauf la condition étudiée. Dans un essai de mesure de la toxicité en milieu aquatique, le témoin doit reproduire toutes les conditions d'essai, sans être additionné de la matière ou de la substance d'essai. Il sert à déterminer l'absence de toxicité mesurable, attribuable aux conditions de base de l'essai (p. ex. température, santé des organismes d'essai ou effets dus à leur manipulation).

toxicité, capacité propre d'une substance ou d'une matière de provoquer des effets nocifs, létaux ou sublétaux, chez les organismes vivants.

Remerciements

L'auteur de la présente méthode de référence est D. McLeay (McLeay Environmental Ltd., Victoria). Le rapport se fonde, en la complétant, sur une méthode d'essai biologique générale d'Environnement Canada permettant de mesurer la toxicité d'un sédiment à l'aide d'amphipodes marins ou estuariens (Environnement Canada, 1992 ; SPE 1/RM/26). Cette méthode utilise, sans s'y limiter, les espèces exigées dans le présent rapport.

Les autorités scientifiques R. Scroggins (Section de l'élaboration et de l'application des méthodes, Centre de technologie environnementale, Environnement Canada, Gloucester [Ont.] et J. Osborne (Division du milieu marin, Environnement Canada, Hull) ont fourni au travail, tout au long de sa réalisation, un apport et une orientation techniques. Les membres du Groupe intergouvernemental de la toxicité aquatique (GITA, annexe A) ont participé à l'élaboration et à l'examen du rapport. Qu'ils en soient remerciés. Merci aussi, de leur appui, aux membres des bureaux régionaux et de l'administration centrale d'Environnement Canada (annexe B).

Sont spécialement reconnues les nombreuses observations utiles faites par chacun des membres du Groupe consultatif scientifique chargés de l'apport et des conseils scientifiques au cours de l'élaboration du rapport et de sa révision. Cette équipe de conseillers comprenait : le Dr P. Chapman (EVS Environment Consultants, North Vancouver [C.-B.), Mme C. Côté (Beak Consultants Ltée, Dorval [Qc]), M. K. Doe (Environnement Canada, Moncton), Mme M. Fennell (Environnement Canada, North Vancouver), Mme C. Harris (Harris Industrial Testing Services Ltd., comté de Hants [N.-É.]), Mme E. Jonczyk (Beak Consultants Ltd., Brampton [Ont.]), Mme D. Lee (ministère de l'Environnement, des Terres et des Parcs de la Colombie-Britannique, Surrey), Mme C. McPherson (EVS Environment Consultants, North Vancouver), Mme M. Murdoch (Jacques Whitford Environment Ltd., St. John's), Mme L. Porebski (Environnement Canada, Hull), M. P. Riebel (P. Riebel and Associates, Baie-d'Urfé [Qc]), Mme J. Stewart (EVS Environment Consultants, North Vancouver), Mme D. Sullivan (Environnement Canada, North Vancouver), le Dr K.-L. Tay (Environnement Canada, Dartmouth [N.-É.) et M. G. van Aggelen (Environnement Canada, North Vancouver). On trouvera dans l'annexe C les coordonnées complètes de chaque membre de ce Groupe consultatif scientifique, des autorités scientifiques et du consultant.

Section 1

Introduction

La présente méthode de référence précise les modes opératoires et les conditions qui s'appliquent à la préparation et à la réalisation d'un essai de mesure de la toxicité aiguë (après 10 j) d'échantillons de sédiment marin ou estuarien effectivement ou potentiellement contaminé. Pour cet essai, il faut utiliser au moins une des quatre espèces suivantes d'amphipodes marins ou estuariens de l'endofaune : *Rhepoxynius abronius*, *Eohaustorius washingtonianus*, *Eohaustorius estuarius*, *Amphiporeia virginiana*. Cette méthode de référence représente l'une des méthodes d'essai biologique à utiliser dans les évaluations des sédiments conformément au *Règlement sur l'immersion de déchets en mer*, sous le régime de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (EC, 1997).

Les principaux éléments des modes opératoires et des conditions exposés dans le présent document sont conformes aux lignes directrices et aux méthodes de mesure de la toxicité des sédiments à l'aide d'amphipodes marins ou estuariens, décrites dans USEPA/USACE (1991), ASTM (1993), et USEPA (1994a). Nous reconnaissons l'apport de ces méthodes à tous les éléments de la présente méthode de référence, lesquels y trouvent leur justification. Les modes opératoires préconisés dans le présent rapport devraient cependant être considérés comme définitifs pour les besoins des règlements.

La présente méthode est compatible avec les orientations, les conseils et les citations plus détaillés et plus complets qui figurent dans le rapport général d'Environnement Canada SPE 1/RM/26 intitulé *Méthode d'essai biologique : essai de toxicité aiguë de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens* (EC, 1992 ; y compris les modifications d'octobre 1998). Cette méthode d'essai biologique (EC, 1992) doit jouer son rôle complémentaire dans les préparatifs et la réalisation de la présente méthode de référence.

On devrait consulter les § 1.1 et 1.2 d'Environnement Canada (1992) pour obtenir plus de renseignements de base et de détails concernant l'historique de l'emploi de l'essai. Dans les annexes D à G, on trouvera mention des travaux plus récents concernant l'emploi de *R. abronius*, *E. washingtonianus*, *E. estuarius* ou *A. virginiana*.

Section 2

Organismes d'essai

2.1 Sélection des espèces

Avec la présente méthode de référence, il faut utiliser au moins l'une des espèces suivantes d'amphipodes de l'endofaune marine ou estuarienne :

Rhepoxynius abronius ;
Eohaustorius washingtonianus ;
Eohaustorius estuarius ;
Amphiporeia virginiana.

Le choix de l'espèce ou des espèces pour une étude doit tenir compte des caractéristiques physico-chimiques connues ou prévues de la matière d'essai (p. ex. la granulométrie des sédiments, la salinité et la teneur en ammoniaque de l'eau de porosité) de même que des limites connues de tolérance des quatre espèces à leur égard. Il faut bien connaître les limites de tolérance et d'emploi de ces quatre espèces, exposées dans les annexes D (*R. abronius*), E (*E. washingtonianus*), F (*E. estuarius*) et G (*A. virginiana*) ou consulter ces annexes. Il faudrait notamment être sensibilisé au fait que certaines caractéristiques de chaque échantillon de la matière à évaluer (c'est-à-dire sa granulométrie et la salinité de l'eau de porosité) doivent se situer à l'intérieur des limites spécifiques d'emploi (v. § 2.6). Il faut donc connaître la granulométrie de la matière d'essai et la salinité de son eau de porosité avant de choisir l'espèce. On devrait aussi être sensibilisé aux limites connues de tolérance de chacune des espèces à l'ammoniaque de l'eau de porosité (v. annexes D à G) et en tenir compte ainsi que des concentrations connues ou prévues de ce contaminant dans les sédiments d'essai, au moment de choisir les espèces pour l'essai et interpréter les constatations expérimentales. On trouvera au § 2.1 d'Environnement Canada (1992) d'autres conseils sur la sélection de l'espèce d'essai.

2.2 Stade du cycle biologique, taille, source

Pour l'essai, on devrait utiliser des jeunes ou des adultes de chacune de ces espèces, mesurant de 3 à 5 mm de longueur totale — ces animaux sont disponibles l'année durant (EC, 1992). On ne doit pas utiliser les très gros individus (c'est-à-dire ceux dont la longueur totale excède 5 mm). On ne devrait pas utiliser non plus les organismes trop petits pour être retenus sur un tamis à mailles de 0,5 mm.

Tous les amphipodes utilisés dans un essai doivent provenir de la même population et de la même source. On trouvera dans les annexes E (*A. virginiana*), G (*E. estuarius*), H (*E. washingtonianus*) et K (*R. abronius*) d'Environnement Canada (1992) des indications sur l'aspect, le comportement et la répartition (y compris les lieux possibles de capture) des amphipodes à utiliser avec la méthode de référence. Les localités où habituellement on les capture sont notamment West Beach, dans l'île Whidbey (Washington) [*R. abronius*] ; la lagune Witty ou le côté exposé de la lagune Esquimalt, à Victoria (C.-B.) [*E. washingtonianus*] ; le ruisseau Beaver, à Newport (Oregon) [*E. estuarius*] ; Martinique Beach, comté de

Halifax (N.-É.) [*A. virginiana*]. Des distributeurs commerciaux se sont spécialisés dans la capture et l'expédition de ces espèces. Le personnel de laboratoire devrait être convaincu que la ou les personnes qui entreprennent la capture, la manutention et le transport des organismes à utiliser avec la présente méthode de référence connaissent bien les pratiques reconnues à ce sujet et s'y conforment (EC, 1992 ; USEPA, 1994a), et que les organismes fournis appartiennent de fait aux bonnes espèces. Pour renseignements, s'adresser à Environnement Canada ou à d'autres membres du Groupe consultatif scientifique (annexe C).

2.3 *Prélèvement, manipulation et transport*

On devrait suivre les conseils donnés au § 2.4 d'Environnement Canada (1992) pour la capture, la manipulation et le transport des amphipodes. Il est vital d'employer des méthodes normalisées et éprouvées, pour obtenir des sujets invariablement en bonne santé pour les essais toxicologiques.

Les récipients de transport des amphipodes servent habituellement à conserver et à acclimater les organismes au laboratoire. Les récipients convenables, à couvercle fermant hermétiquement, comprennent les récipients de plastique pour aliments ou les seaux de plastique. Sur les lieux de la capture, on devrait déposer dans le fond du récipient au moins 2 à 4 cm de sédiment local tamisé (sur un tamis à mailles de 0,5 à 1,0 mm). On ajoute ensuite de l'eau locale, suffisamment pour recouvrir le sédiment d'au moins 2 cm. On devrait ensuite transvaser doucement dans le récipient des amphipodes capturés par tamisage d'autres parties du sédiment local. Le récipient ne devrait pas renfermer plus d'un amphipode par centimètre carré (USEPA, 1994a).

On devrait collecter, tamiser et transporter avec les animaux, pour servir de sédiment témoin de l'essai toxicologique, une quantité convenable de sédiment.

On ne recommande pas le transport à grande distance (c'est-à-dire par avion) d'*E. washingtonianus* ou d'*A. virginiana*, en raison de la mortalité excessive et inacceptable survenant au cours de la conservation et de l'acclimatation ou dans le sédiment témoin au cours de l'essai. Si on choisit néanmoins d'utiliser ces espèces plutôt que les autres (*R. abronius* ou *E. estuarius*), il faut cependant respecter le critère spécifique de validité de l'essai (§ 4.6), si on veut que les résultats de l'essai soient considérés comme valides et acceptables selon la présente méthode.

2.4 *Conservation et acclimatation*

Il faudrait suivre les conseils fournis au § 2.5 d'Environnement Canada (1992) pour conserver et acclimater un groupe d'amphipodes capturés en vue de servir dans un essai toxicologique sur un sédiment.

Pendant au moins deux jours et au plus dix, avant le début de l'essai, il faut acclimater les animaux capturés dans la nature à l'éclairage, à la température et à la salinité (de l'eau surnageante) qui existeront au cours de l'essai (v. section 4). En outre, on ne devrait pas garder au laboratoire les sujets plus de 10 jours après leur capture avant d'entreprendre l'essai.

Dès la réception, au laboratoire, des animaux capturés dans la nature, on devrait

déterminer et enregistrer la qualité (c'est-à-dire la température, la salinité, la teneur en oxygène dissous et le pH) de l'eau surnageante d'au moins un des récipients dans lesquels on conserve les animaux et le sédiment du lieu de capture. On devrait compter et retirer du récipient tout cadavre observé à la surface du sédiment ainsi que tout débris évident. On ne recommande pas de tamiser le sédiment qui se trouve dans le récipient avant le début de l'essai, puisque l'on pourrait inutilement traumatiser les organismes. Pour les déranger le moins possible, on devrait les conserver et les acclimater dans le ou les récipients qui ont servi à leur capture et à leur transport. On pourrait aussi les transvaser, ainsi que le sédiment où ils se trouvent (sans tamisage) dans un vivier ou un aquarium d'acclimatation plus volumineux si on l'estime nécessaire pour réduire l'encombrement et augmenter la surface.

Pendant la conservation et l'acclimatation, on devrait faire jeûner les amphipodes, dans une couche d'au moins 2 à 4 cm de sédiment du lieu de capture. L'eau surnageante devrait avoir au moins 2 cm de profondeur. La teneur en oxygène dissous de cette eau doit être maintenue à 90 à 100 % de saturation, grâce à un système d'aération ou, le cas échéant, par le renouvellement continu de cette eau par de l'eau saturée en oxygène. Selon la durée de la période de conservation ou d'acclimatation, on devrait remplacer l'eau surnageante de façon continue ou intermittente (p. ex. journellement) par de l'eau de mer fraîche, saturée en air, réglée à la température et à la salinité nécessaires.

Pendant la conservation et l'acclimatation, l'éclairage doit être constant et continu. On devrait utiliser un éclairage vertical à spectre large (fluorescent ou l'équivalent), d'une intensité, près de la surface de l'eau, de 500 à 1 000 lux. La température de l'eau surnageante doit être réglée graduellement (c'est-à-dire ne pas varier de plus de 3 °C/j) pour atteindre la température journalière moyenne d'acclimatation de 15 ± 2 °C (pour *R. abronius*, *E. washingtonianus* ou *E. estuarius*) ; ou de 10 ± 2 °C (pour *A. virginiana*). Cette température atteinte, il faut y garder les amphipodes au moins deux jours avant de les utiliser dans un essai.

Il faut régler graduellement la salinité de l'eau surnageante (c'est-à-dire ne pas la faire varier de plus de 5 ‰/j) jusqu'à ce que l'on atteigne une valeur représentative de la salinité de l'eau de porosité mesurée dans l'échantillon ou les échantillons de matière d'essai. On doit ensuite y garder les amphipodes au moins deux jours avant de les utiliser dans un essai. Dans les cas où l'essai porte sur un certain nombre d'échantillons (p. ex. les matières de lieux différents, de profondeurs différentes ou des deux), il faut régler la salinité de l'eau surnageante à la moyenne de la salinité de l'eau de porosité déterminée pour ces échantillons (§ 4.3). La salinité à laquelle on acclimate les organismes doit se trouver dans leur fourchette d'emploi (v. § 2.6). Pour réduire au minimum le délai entre la capture des organismes et le début de l'essai, on peut corriger simultanément la salinité et la température (en les amenant aux conditions de l'acclimatation et des essais).

On devrait mesurer au moins journellement, au début de leur réglage, la température et la salinité de l'eau surnageante de chaque vivier ou aquarium d'acclimatation. Ensuite, on doit au moins en mesurer la température, la salinité, le pH et la teneur en oxygène

dissous au début et à la fin de la période résiduelle d'acclimatation (c'est-à-dire 2 à 10 jours). Il est recommandé de mesurer journellement la température et la salinité au cours de cette période. L'eau servant à conserver et à acclimater les organismes d'essai peut provenir d'une source non contaminée d'eau de mer naturelle ou reconstituée. On devrait consulter le § 2.5.4 d'Environnement Canada (1992) et en suivre les conseils lorsque l'on prépare et entrepose cette eau et lorsque l'on en contrôle la qualité.

2.5 *Sélection des organismes d'essai*

L'aspect et le comportement des amphipodes de chaque vivier ou aquarium d'acclimatation devraient être normaux et typiques (v. EC, 1992). On doit sacrifier tout animal ne fouissant pas dans le sédiment ou semblant se comporter ou se comportant effectivement de façon atypique pendant la conservation et l'acclimatation. Idem pour tout animal semblant se comporter ou se comportant effectivement de façon atypique (v. § 2.2) après avoir été retenu par le tamis sur lequel on passe le sédiment du lieu de capture, le jour de démarrage de l'essai (§ 4.7). Il faudrait noter le nombre d'amphipodes observés à la surface du sédiment ou dans l'eau surnageante pendant la conservation et l'acclimatation et, à chaque période d'observation, le nombre d'animaux morts ou au comportement atypique.

2.6 *Limites spécifiques d'emploi*

Il faut connaître les caractéristiques physico-chimiques de chaque sédiment d'essai, avant de sélectionner l'organisme d'essai. La sélection de l'espèce d'amphipode destinée à un essai toxicologique particulier du sédiment dépend de la salinité de l'eau de porosité et de la granulométrie de la matière d'essai. Il faut se conformer aux limites spécifiques d'emploi du tableau 1, dans le choix de l'espèce, pour son acclimatation et la réalisation de l'essai selon la présente méthode de référence (v. annexes D à G pour plus de précisions).

Tableau 1. — Limites spécifiques d'emploi de la méthode de référence

Espèces	Caractéristiques physico-chimiques acceptables du sédiment d'essai			
		Granulométrie du sédiment		
	salinité de l'eau de porosité (‰)	fraction très grossière (%)[a]	fraction fine (%)[b]	argiles (%)[c]
Rhepoxynius abronius	doit être de 25 à 35	0 à 100 est acceptable	doit être < 90	doit être < 40
Eohaustorius washingtonianus	doit être de 15 à 35	doit être < 25	doit être < 80	doit être < 20
Eohaustorius estuarius	doit être de 2 à 35	doit être < 90	0 à 100 est acceptable	doit être < 70
Amphiporeia virginiana	doit être de 15 à 35	0 à 100 est acceptable	doit être < 90	doit être < 35

a. Pourcentage de particules de plus de 1,0 mm.
b. Pourcentage de particules de moins de 0,063 mm (c'est-à-dire pourcentage de limon et d'argile).
c. Pourcentage de particules de moins de 0,004 mm.

Section 3

Installations, équipement et fournitures

Les installations dans lesquelles on garde et on acclimate les amphipodes et dans lequelles on entreprend les essais toxicologiques doivent être bien ventilées, être exemptes d'émanations et être isolées des facteurs physiques de dérangement ou des contaminants atmosphériques qui pourraient nuire aux organismes d'essai. L'installation d'essai devrait être isolée de l'endroit où on garde et on acclimate les amphipodes aux conditions expérimentales. Les installations de conservation et d'acclimatation ainsi que les installations expérimentales devraient aussi être isolées de l'atelier de préparation des sédiments ou des solutions mères de produits chimiques et être éloignées de la laverie.

Les installations séparées d'acclimatation et d'essai doivent permettre de maintenir dans la gamme souhaitée (c'est-à-dire 15 ± 2 °C pour *R. abronius*, *E. washingtonianus* ou *E. estuarius* ; 10 ± 2°C pour *A. virginiana*) la température de l'eau surnageante. À cette fin, on peut utiliser des caissons climatiques, des bains d'eau à recirculation, thermostatés, ou des appareils équivalents avec thermostat de précision. Un éclairage vertical par fluorescents ou un système équivalent d'éclairage en spectre large devrait fournir une intensité lumineuse de 500 à 1 000 lux, à proximité de la surface de l'eau surnageante, dans les installations d'essai comme dans les viviers et les aquariums d'acclimatation.

L'équipement et les fournitures entrant en contact avec les sédiments, l'eau ou les solutions mères ne doivent pas renfermer de substances qui peuvent être lixiviées ou dissoutes en quantités nuisibles pour les organismes d'essai. On devrait les choisir soigneusement de façon à réduire au minimum la sorption des matières présentes dans l'eau. On devrait suivre les conseils fournis dans le § 2.5.2 d'Environnement Canada (1992) lorsque l'on choisit l'équipement et les fournitures.

On recommande des récipients de plastique haute densité pour conserver et acclimater les amphipodes. Comme enceintes expérimentales, on doit utiliser des récipients de verre (bechers ou bocaux) d'une capacité d'environ 1 L et d'un diamètre interne d'environ 10 cm, muni des couvercles convenables (p. ex. verres de montre ou plastique). On doit nettoyer et rincer immédiatement avant emploi toutes les enceintes expérimentales et tout l'équipement entrant en contact avec le sédiment, l'eau ou les organismes d'essai (consulter le § 3.3 d'Environnement Canada, 1992).

Section 4

Mode opératoire de l'essai du sédiment

4.1 Prélèvement des échantillons

On consultera au préalable le § 5.1 d'Environnement Canada (1992), qui donne des conseils sur le prélèvement d'échantillons de sédiment marin ou estuarien en vue de l'évaluation de leur toxicité à l'aide d'amphipodes marins ou estuariens. On consultera aussi le guide d'Environnement Canada (1994), qui donne des orientations supplémentaires sur les plans d'échantillonnage sur le terrain et sur les techniques convenables de prélèvement.

Les modes opératoires et l'équipement servant aux prélèvements (par carottier, benne preneuse, drague) ou les techniques d'obtention d'échantillons composés (ou composites) dépendent des objectifs de l'étude et des exigences réglementaires ainsi que de la nature de la matière à prélever. On devrait prélever à toutes les profondeurs dignes d'intérêt les échantillons de déblais de dragage. Les échantillons de sédiment d'essai ou de référence prélevés sur le terrain, y compris de sédiment prélevé sur les lieux d'immersion en mer ou tout à côté, représentent souvent la couche supérieure de 2 cm d'épaisseur. Les lieux de prélèvement des sédiments de référence devraient être recherchés dans les endroits où les propriétés géochimiques du sédiment, y compris sa granulométrie, sont semblables à celles des lieux de prélèvement des sédiments d'essai. Idéalement, le sédiment de référence devrait provenir d'un lieu à la fois à l'abri de la source ou des sources de contamination et dans les parages du lieu de prélèvement des échantillons de sédiment. On recommande de collecter le sédiment de référence en plus d'un endroit, afin d'accroître la probabilité d'une bonne correspondance avec les caractéristiques granulométriques et physico-chimiques des sédiments d'essai. Normalement, les échantillons de sédiment témoin sont prélevés sur les lieux de capture des organismes d'essai.

Le nombre de lieux où on doit prélever un échantillon sur l'emplacement de l'étude et le nombre d'échantillons répétés à prélever chaque fois sont propres à chaque étude. La plupart du temps, il faut faire un compromis entre les contraintes logistiques et pratiques (p. ex. le temps et les coûts) et les considérations statistiques. On devrait consulter Environnement Canada (1994) pour obtenir des orientations sur le plan d'échantillonnage, y compris sur le nombre minimal recommandé d'échantillons répétés à prélever. On trouve des orientations supplémentaires sur l'échantillonnage dans Environnement Canada (1995), sur les applications relatives à l'immersion en mer. On incite les demandeurs à consulter leur bureau régional de l'immersion des déchets en mer d'Environnement Canada (v. annexes B et C pour obtenir des renseignements sur les contacts), avant le prélèvement et les essais.

Lorsque cela est pratique et conforme au plan d'expérience et aux objectifs de l'étude, on devrait prélever au moins cinq échantillons de sédiment en chaque lieu et à chaque profondeur d'échantillonnage auquel on s'intéresse. Lorsque cela est pratique et convenable (v. section 6), on devrait aussi

prélever au moins cinq échantillons d'au moins un lieu de référence (c'est-à-dire en des emplacements où on peut trouver un sédiment non contaminé possédant des propriétés physico-chimiques semblables à celles des sédiments d'essai) proche. L'objectif du prélèvement d'échantillons répétés est de permettre des comparaisons statistiques quantitatives sur le même lieu et entre différents lieux (EC, 1994 et 1998a). Chacun de ces échantillons de sédiment, qui constituent de véritables répétitions, devrait être vérifié quant à sa toxicité aiguë pour les amphipodes, dans au moins cinq enceintes expérimentales par échantillon (c'est-à-dire des répétitions de laboratoire)[EC, 1992].

À l'égard de certains projets de dragage, il est souvent inutile de prélever des échantillons répétés en un lieu d'échantillonnage donné (EC, 1994). Si l'objectif est d'évaluer de façon efficiente la toxicité des échantillons dans le secteur où sera réalisé le projet, la solution la meilleure pourrait être d'échantillonner le plus grand nombre possible de lieux (sous réserve des contraintes de coûts) en prélevant un échantillon en chaque lieu. Dans ce cas, l'essai pourrait se limiter à cinq répétitions en laboratoire (c'est-à-dire cinq sous-échantillons) par échantillon (et aucune répétition des échantillons de chaque lieu), chacune des répétitions étant préparée au laboratoire (§ 4.3).

Pour prélever le sédiment, on devrait utiliser une benne « benthique » (c'est-à-dire Smith-MacIntyre, Van Veen ou PONAR) ou un carottier, plutôt qu'une drague, pour perturber le moins possible l'échantillon. Il faut veiller au cours du prélèvement à réduire au minimum la perte de fines particules. Dans tous les lieux de prélèvement, on devrait utiliser la même méthode de prélèvement.

Le volume d'échantillon souvent nécessaire est d'au moins 5 à 7 L de sédiment entier par échantillon (EC, 1994), bien que ce volume dépende des objectifs de l'étude et du plan d'expérience ainsi que de la nature des analyses physico-chimiques à réaliser. Pour obtenir le volume souhaité d'échantillon, il est souvent nécessaire de combiner des sous-échantillons récupérés au moyen du préleveur. On devrait suivre les conseils donnés dans Environnement Canada (1994) sur l'obtention de sous-échantillons composés.

4.2 Étiquetage, transport et entreposage des échantillons

Les instructions et les conseils figurant au § 5.2 d'Environnement Canada (1992) et concernant l'étiquetage, le transport et l'entreposage des échantillons s'appliquent ici. On devrait les examiner et s'y conformer. On trouve des conseils supplémentaires à cet égard dans Environnement Canada (1994) et USEPA (1994a).

Les récipients servant au transport et à l'entreposage des échantillons doivent être neufs ou avoir été nettoyés à fond et rincés à l'eau propre. Il faudrait consulter Environnement Canada (1994), pour obtenir des conseils sur le choix des récipients convenables. On devrait remplir totalement chaque récipient de l'échantillon, afin d'en exclure l'air. Immédiatement après son remplissage, on doit le sceller puis l'étiqueter ou le coder. L'étiquetage et les enregistrements connexes alors créés doivent comprendre au moins un code d'identification de l'échantillon ou du sous-

échantillon. Le personnel de terrain qui détermine la nature de l'échantillon (p. ex. prélevé par benne, par carottier ; échantillon composé ou composite), sa provenance, les coordonnées de son origine (p. ex. hydronyme, latitude, longitude, profondeur), le nombre de répétitions et la date du prélèvement doit créer un enregistrement à renvois croisés qui pourrait accompagner ou ne pas accompagner l'échantillon ou le sous-échantillon. Cet enregistrement devrait aussi mentionner le nom et porter la signature du ou des préposés au prélèvement. Ces derniers devraient aussi conserver des dossiers décrivant :

- la nature, l'aspect, le volume ou le poids de chaque échantillon ;
- la méthode et l'appareillage de prélèvement utilisés ;
- toute méthode utilisée pour obtenir des échantillons composés ou des sous-échantillons prélevés par bennes ou carottiers ;
- le nombre d'échantillons répétés prélevés en chaque lieu d'échantillonnage ;
- le calendrier des prélèvements ;
- la nature et le nombre de récipients utilisés pour le transport des échantillons ;
- toute mesure effectuée sur le terrain (p. ex. la température la salinité, le pH, la teneur en oxygène dissous) dans l'eau surnageante ou le sédiment, sur les lieux du prélèvement ;
- les méthodes et les conditions de refroidissement et de transport des échantillons.

Dès le prélèvement, on devrait refroidir entre 1 et 7 °C les échantillons chauds (plus de 7 °C) au moyen de glace ordinaire ou de sachets réfrigérants congelés, puis les garder au frais (4 ± 3 °C), à l'obscurité, tout au long du transport (EC, 1994). Au besoin, on devrait utiliser des sachets réfrigérants, de la glace ordinaire ou tout autre moyen de réfrigération, pour maintenir la température des échantillons dans la gamme de 1 à 7 °C durant le transport.

À l'arrivée des échantillons au laboratoire, il faut en enregistrer la température et la date de réception. Il faut conserver dans des récipients fermés hermétiquement et à l'obscurité, à 4 ± 2 °C, les échantillons à conserver pour utilisation ultérieure (EC, 1992 et 1994). Avant de fermer hermétiquement le récipient, il faudrait en purger l'espace d'air par un courant d'azote (EC, 1994). Il ne faut pas congeler les échantillons, en totalité ou en partie, au cours du transport ou de l'entreposage et il ne faut pas les laisser sécher (EC, 1992 et 1994). Il est recommandé de soumettre à l'essai le plus tôt possible après le prélèvement les échantillons de sédiment ou de matières particulaires semblables. L'essai toxicologique du sédiment devrait débuter dans les deux semaines suivant le prélèvement, de préférence moins d'une semaine après ; l'essai ne doit pas débuter plus de six semaines après le prélèvement.

4.3 Manipulation et caractérisation des échantillons

Il ne faut pas soumettre au tamisage hydraulique les échantillons de sédiment d'essai et de référence prélevés sur le terrain. On devrait retirer à l'aide de pincettes ou à la

main (gantée) les gros débris ou les macro-organismes indigènes de grande taille. Si l'échantillon renferme un nombre important de macro-organismes indigènes impossibles à éliminer par ces moyens, on peut le passer, sous pression (et non en le lavant), au travers d'un ou de plusieurs tamis d'acier inoxydable à mailles de grandeur convenable (p. ex. 1 ou 2 mm). Il faut remêler au sédiment toute eau de porosité qui s'en est séparée au cours du transport et de l'entreposage. Pour homogénéiser l'échantillon, on le mélange soit dans le récipient de transport et d'entreposage ou on le transvase à cette fin dans un récipient propre. On devrait normalement employer un outil non toxique (p. ex. cuillère ou spatule d'acier inoxydable), jusqu'à l'obtention d'une texture et d'une couleur homogènes (EC, 1992). On peut aussi utiliser une méthode mécanique (USEPA, 1994a ; EC, 1994) pour homogénéiser l'échantillon. Pour chaque échantillon utilisé dans un essai, les conditions de mélange, notamment la durée et la température, doivent être aussi constantes que possible. Si on s'inquiète de l'efficacité du mélange de l'échantillon, on devrait prélever, après l'opération, des sous-échantillons du sédiment et les analyser séparément pour en déterminer l'homogénéité.

Il faut au préalable soumettre au tamisage hydraulique, sur un tamis d'acier inoxydable à mailles de 0,5 mm, la partie de l'échantillon témoin prélevée sur les lieux de capture des amphipodes et destinée à l'analyse granulométrique et chimique, afin d'en éliminer les petits amphipodes et d'autres organismes. On devrait suivre le mode opératoire décrit au § 3.4 d'Environnement Canada (1992). On devrait entreposer le sédiment témoin tamisé de la façon décrite dans le paragraphe précédent (4.2) jusqu'à son emploi.

Immédiatement après le mélange de l'échantillon, il faut en retirer les sous-échantillons exigés pour l'essai toxicologique et les analyses physico-chimiques et les déposer dans des enceintes expérimentales étiquetées ainsi que dans les récipients étiquetés exigés pour l'entreposage des échantillons destinés aux analyses physico-chimiques ultérieures. On devrait alors transvaser dans des récipients étiquetés toute portion résiduelle de l'échantillon homogénéisé qui pourrait être nécessaire à des essais toxicologiques supplémentaires à l'aide d'amphipodes ou d'autres organismes. On devrait conserver tous les sous-échantillons à entreposer dans des récipients fermant hermétiquement, d'où on aura éliminé tout espace d'air et il faut les conserver à l'obscurité, à 4 ± 2 °C, jusqu'à leur emploi ou à leur analyse. Immédiatement avant de l'analyser ou de l'utiliser dans l'essai toxicologique, il faut remélanger à fond tout sous-échantillon pour s'assurer de son homogénéité.

Il faut caractériser chaque échantillon (y compris tous les échantillons de sédiment témoin et de référence) par l'analyse, dans des sous-échantillons, des paramètres suivants au moins (EC, 1992 ; USEPA, 1994a) : dans le sédiment entier — le pourcentage de sédiment très grossier (c'est-à-dire des particules d'une taille de plus de 1,0 mm), de sables (> 0,063 à 2,0 mm), de limons (> 0,004 à 0,063 mm), d'argiles (< 0,004 mm), le pourcentage d'eau et la teneur en carbone organique total ; dans l'eau de porosité — la salinité, le pH et la teneur en ammoniaque totale et en ammoniac non ionisé. À ces analyses pourraient

s'ajouter les suivantes : carbone inorganique total, matières volatiles totales, demande biochimique d'oxygène, demande chimique d'oxygène, capacité d'échange cationique, sulfures volatils acides, métaux, composés organiques de synthèse, huiles et graisses, hydrocarbures pétroliers et, dans l'eau de porosité, divers paramètres physico-chimiques tels que le sulfure d'hydrogène. Les modes opératoires recommandés pour le prélèvement de l'eau de porosité sont décrits dans Environnement Canada (1994). On devrait ici s'y conformer. Pour les besoins de l'immersion en mer, on explique les exigences minimales en matière d'information dans Environnement Canada (1995).

Il faut entreprendre le plus tôt possible après le prélèvement des échantillons l'analyse granulométrique et celle de la salinité de l'eau de porosité, pour s'assurer que ces caractéristiques se situent dans les limites d'emploi des organismes d'essai (v. § 2.6 ainsi que les annexes D [*R. abronius*], E [*E. washingtonianus*], F [*E. estuarius*] et G [*A. virginiana*]). On doit mesurer le pH et la salinité et doser l'ammoniaque de l'eau de porosité dans les 24 heures suivant le début de l'essai, et on devrait commencer ces mesures au début de l'essai, afin de déterminer les concentrations initiales d'ammoniaque totale et d'ammoniac non ionisé auxquelles les organismes sont exposés au début de l'essai. Le dosage de l'ammoniaque doit employer une méthode reconnue et normalisée (p. ex., APHA *et al.*, 1995 ; *Standard Methods*). Le calcul des concentrations d'ammoniac non ionisé doit tenir compte de la température à laquelle se déroule l'essai, du pH de l'eau de porosité et de la salinité de l'échantillon (Trussell, 1972 ; Bower et Bidwell, 1978 ; USEPA, 1985).

4.4 Eau d'essai

Cette eau doit être celle qui a servi à l'acclimatation des organismes d'essai (v. § 2.4). Ce peut être de l'eau de mer reconstituée ou de l'eau de mer naturelle provenant d'une source non contaminée. On peut ajuster la salinité de l'eau de mer naturelle ou reconstituée à la valeur requise (c'est-à-dire celle à laquelle les amphipodes ont été acclimatés ; v. § 2.4), par l'ajout de sels de mer (à l'état solide) ou de saumure (si l'eau est trop saumâtre), ou de l'eau distillée (si l'eau est trop salée). On devrait suivre les conseils fournis dans Environnement Canada (1992 ; § 2.5.4) concernant la préparation et l'entreposage de l'eau d'essai.

Il faut régler la température de l'eau d'essai à celle qui est nécessaire au déroulement de l'essai (c'est-à-dire 15 ± 2 °C si on utilise *R. abronius*, *E. washingtonianus* ou *E. estuarius* ; 10 ± 2 °C, si c'est *A. virginiana*) et sa salinité, avant l'emploi ; la concentration en oxygène dissous doit être de 90 à 100 % de la valeur de saturation en air, à cette température et à cette salinité. Au besoin, on devrait aérer le volume nécessaire d'eau, vigoureusement (à l'air comprimé, exempt d'huile, diffusé au travers d'une ou de plusieurs pierres poreuses pour aquarium) immédiatement avant de l'utiliser, et on devrait en vérifier la teneur en oxygène dissous pour confirmer que l'on a atteint ce taux de 90 à 100 % de saturation.

4.5 Conditions de l'essai

- Il s'agit d'un essai toxicologique statique du sédiment entier, durant lequel on ne renouvelle pas l'eau surnageante.
- La durée de l'essai est de 10 jours.

- Dans le cas des amphipodes *R. abronius*, *E. washingtonianus*, et *E. estuarius*, l'essai doit se dérouler à la température moyenne journalière de 15 ± 2 °C. En outre, la température instantanée doit être de 15 ± 3 °C, en tout temps au cours de l'essai.

  Dans le cas d'*A. virginiana*, les températures moyenne et instantanée doivent être respectivement de 10 ± 2 °C et de 10 ± 3 °C.

- Au début de l'essai, la salinité de l'eau surnageante doit être la même que celle à laquelle l'organisme d'essai a été acclimaté (v. § 2.4).

- Dans chaque enceinte expérimentale d'environ 1 L, le sédiment doit se présenter sous la forme d'une couche uniforme de 175 mL, d'une épaisseur d'environ 2 cm, surmontée d'une couche d'eau de 775 mL.

- Il faut couvrir chaque enceinte expérimentale.

- Il faut aérer en continu l'eau surnageante de chaque enceinte expérimentale, à un débit lent qui ne perturbe ou ne dérange pas la surface du sédiment. Ce débit devrait maintenir une concentration en OD dans l'eau surnageante d'au moins 90 % de saturation tout au long de l'essai.

- Durant l'essai, on doit maintenir l'éclairage en tout temps. L'intensité de ce dernier intensité près de la surface de l'eau devrait être de 500 à 1 000 lux.

- Au cours des 10 journées de l'essai, il ne faut pas nourrir les organismes d'essai.

4.6 Critères de validité de l'essai

- Après 10 jours, le taux de survie moyen de *R. abronius* ou d'*E. estuarius* dans le sédiment témoin doit être d'au moins 90 %.

- Après 10 jours, le taux de survie moyen d'*E. washingtonianus* dans le sédiment témoin doit être d'au moins 85 %.

- Après 10 jours, le taux de survie moyen d'*A. virginiana* dans le sédiment témoin doit être d'au moins 80 %.

- Les résultats correspondant à un sédiment d'essai donné (y compris le sédiment de référence et le sédiment témoin) sont valides uniquement si ses caractéristiques granulométriques et la salinité de l'eau se situent dans la fourchette d'emploi précisée à l'égard de l'organisme d'essai (v. § 2.6).

4.7 Mise en route de l'essai

Les détails concernant les préparatifs et la mise en route de l'essai sont fournis dans le § 4.1 d'Environnement Canada (1992) ; on devrait en suivre les instructions quand on entreprend la présente méthode de référence.

Chaque enceinte expérimentale du laboratoire doit être clairement codée et étiquetée pour permettre l'identification de l'échantillon. Il faut enregistrer la date et l'heure du démarrage de l'essai, soit directement sur les étiquettes ou sur des feuilles séparées, qui se rapportent précisément à l'essai. Il faudrait classer les enceintes expérimentales de façon à faciliter l'observation et la prise de mesures. Il faudrait compter au moins cinq répétitions par concentration, y compris au moins cinq échantillons ou sous-échantillons de sédiment

témoin, dans chaque essai (v. § 4.1). Il faudrait disposer chaque ensemble de répétitions au hasard dans le laboratoire.

La veille du démarrage de l'essai (c'est-à-dire au jour J – 1), on devrait homogénéiser chaque échantillon de sédiment d'essai à évaluer (§ 4.3). Ensuite, on doit porter dans une enceinte expérimentale séparée 175 mL d'échantillon ou de sous-échantillon. On devrait égaliser cette quantité de matière pour qu'elle forme une couche d'environ 2 cm d'épaisseur sur le fond de l'enceinte expérimentale, soit en tapotant les parois avec le tranchant de la main, soit en la lissant avec une spatule propre de plastique ou d'acier inoxydable. Si le sédiment est fortement contaminé, on devrait le déposer dans les enceintes expérimentales sous une hotte homologuée. Ensuite, on devrait ajouter l'eau d'essai (v. § 4.4), sans perturber l'échantillon (v. EC, 1992, § 4.1), jusqu'à une hauteur constante, indiquée sur la paroi de l'enceinte. Le volume (identique) d'eau ajoutée à chaque enceinte devrait approcher la marque de 950 mL (c'est-à-dire le total du volume de sédiment et de l'eau surnageante dans l'enceinte au début de l'essai), mais en prévoyant un certain volume pour le transfert des organismes d'essai (dans un peu d'eau d'essai), le lendemain (c'est-à-dire au jour J). On devrait ensuite couvrir chaque enceinte, la disposer dans l'installation expérimentale thermostatée et entreprendre l'aération de l'eau surnageante à débit lent. Il ne faut pas agiter le sédiment des enceintes expérimentales avec l'eau surnageante ni autrement, en aucun moment, avant (c'est-à-dire au jour J – 1) ou durant l'essai.

Il faut aérer sans interruption l'eau surnageante de chaque enceinte expérimentale dès qu'elle y est ajoutée (c'est-à-dire des jours J – 1 à J + 10) ; sauf peut-être pendant la courte période où l'on ajoute les organismes d'essai et lorsque l'on effectue les observations et les mesures. On devrait faire barboter l'air comprimé, préalablement filtré et exempt d'huile au travers d'une pipette de verre ou de plastique et d'un tube de plastique qui lui est connecté (fournitures d'aquarium). L'extrémité de la pipette devrait être suspendue à 2 à 4 cm au-dessus de la surface du sédiment. Le débit de l'air dans chaque enceinte doit être lent (p. ex. 2 à 3 bulles par seconde) et il ne devrait pas perturber la surface du sédiment. On devrait régler ce débit, au besoin, de façon à maintenir la concentration d'oxygène dissous dans l'eau surnageante à au moins 90 % de saturation (EC, 1992 ; USEPA, 1994a).

On devrait suivre les instructions fournies dans le § 4.1 d'Environnement Canada (1992), lorsque l'on transfère les amphipodes vers les enceintes expérimentales, le lendemain (c'est-à-dire au jour J). On doit retirer les organismes d'essai de leur(s) aquarium(s) d'acclimatation, au moyen d'un tamis (v. § 2.4 et 2.5 ci-dessus) la journée même et transférer au hasard 20 amphipodes dans chaque enceinte expérimentale. Tout sujet à l'allure atypique ou qui tombe du tamis ou qui est blessé au cours du tamisage et du transfert doit être écarté. Après le transfert des organismes, il faut régler le niveau de l'eau dans l'enceinte expérimentale à la marque de 950 mL, après quoi on couvre l'enceinte et on reprend l'aération de l'eau, après une heure d'interruption, à débit lent.

Dans la première heure de l'essai, il faut examiner chaque enceinte pour vérifier si les

amphipodes ont foui le sédiment. À l'exception d'*A. virginiana* (v. EC, 1992 ; note 18), il faut remplacer les sujets qui ne s'enfouissent pas dans l'heure par des sujets de la même population récupérée par tamisage, à moins qu'on n'observe qu'ils fouissent sans cesse l'échantillon et en émergent immédiatement en semblant vouloir l'éviter ou à moins qu'il n'y ait une différence évidente entre les sédiments témoin et d'essai. Cela indiquerait une réaction reliée à la présence d'un contaminant, auquel cas les sujets d'une enceinte donnée ne sont pas remplacés. Les amphipodes présentant un comportement d'évitement au cours de la première heure de l'essai ne doivent pas être remplacés : ils doivent comprendre les 20 sujets qui se trouvent dans l'enceinte expérimentale. Il faut enregistrer les comportements apparents d'évitement.

4.8 Mesures et observations

Il faut effectuer les mesures dans au moins une enceinte expérimentale représentative de chaque variante expérimentale. Il faut mesurer la température de l'eau surnageante au début de l'essai, puis, au moins trois fois par semaine, en des journées non consécutives (p. ex. le lundi, le mercredi, le vendredi) jusqu'à la fin de l'essai. Des mesures plus fréquentes (c'est-à-dire journalières) de la température sont recommandées. En outre, il est recommandé d'enregistrer en continu la température de tout bain d'eau utilisé, de l'air dans une pièce ou enceinte thermostatée ou les deux, également utilisées pour l'essai.

Il faut mesurer au début de l'essai, puis au moins trois fois par semaine, en des journées non consécutives (p. ex. le lundi, le mercredi, le vendredi) jusqu'à la fin de l'essai, dans au moins une enceinte expérimentale représentative de chaque variante expérimentale. la concentration d'oxygène dissous dans l'eau surnageante. On recommande des mesures plus fréquentes (p. ex. journalières ; USEPA, 1994a) sur les sédiments exerçant une forte demande d'oxygène qui abaisse la concentration de l'oxygène dissous dans l'eau surnageante sous le taux de 90 % de saturation. On recommande pour ces mesures une sonde et un oxymètre étalonné. Il faut inspecter la sonde soigneusement après chaque lecture pour s'assurer qu'aucun organisme n'y adhère et la rincer dans l'eau désionisée ou distillée, avant de l'utiliser dans un autre échantillon, afin de réduire au minimum le risque de contamination croisée. Il faudrait vérifier fréquemment et systématiquement (p. ex. journellement) tout au long de l'essai la position de l'extrémité de la pipette dans chaque enceinte expérimentale et le débit d'aération et, si nécessaire, apporter les correctifs pour maintenir un lent débit d'aération (p. ex. 2 à 3 bulles à la seconde).

Si, en quelque moment au cours de l'essai, on constate l'interruption de l'aération d'au moins une enceinte expérimentale, il faut doser l'oxygène dissous dans l'eau surnageante, puis rétablir l'aération lente. Il faut signaler dans le procès-verbal (§ 7.1.6) toute concentration de l'oxygène dissous inférieure au taux de saturation de 60 % (USEPA, 1994a) et tenir compte de l'incident dans l'interprétation des résultats (§ 6.2).

Il faut mesurer la salinité et le pH de l'eau surnageante au début et à la fin de l'essai dans au moins une enceinte expérimentale représentative de chaque variante

expérimentale. En outre, il faut doser l'ammoniaque totale de l'eau surnageante (v. p. ex. APHA *et al.*, 1995) et calculer la teneur en ammoniac non ionisé (Trussell, 1972 ; Bower et Bidwell, 1978 ; USEPA, 1985) au début et à la fin de l'essai, dans au moins une enceinte expérimentale représentative de chaque variante expérimentale. On peut mesurer la salinité et le pH à l'aide de sondes et d'appareils étalonnés. À cette fin, on peut doser l'ammoniaque à l'aide d'une électrode spécifique ou prélever une partie aliquote de l'eau surnageante. Comme en oxymétrie, il faut, immédiatement après chaque lecture, inspecter soigneusement la sonde qu'on a plongée dans le milieu expérimental, puis la rincer dans l'eau désionisée ou distillée, avant de passer à l'échantillon suivant. Pour les dosages de l'ammoniaque exigeant des parties aliquotes d'échantillon, il faut prélever les échantillons d'eau surnageante immédiatement avant l'ajout des organismes d'essai et à la fin de l'essai. Chaque fois, on devrait prélever à cette fin pas plus de 10 % du volume de l'eau surnageante dans l'enceinte expérimentale. On devrait utiliser une pipette pour prélever soigneusement l'eau à une profondeur d'environ 1 à 2 cm au-dessus de la surface des sédiments. On devrait vérifier la pipette pour s'assurer qu'aucun amphipode n'a été entraîné au cours du prélèvement.

Il faut examiner chaque enceinte expérimentale, fréquemment et systématiquement au cours de l'essai (c'est-à-dire au moins trois fois par semaine, en des journées non consécutives et, de préférence, journellement) pour déterminer si des amphipodes sont sortis du sédiment ou s'ils nagent dans l'eau, au-dessus du sédiment ou flottent à la surface. Chaque fois, on devrait noter le nombre de sujets nageant dans l'eau, flottant à sa surface, se déplaçant à la surface du sédiment ou sortis de ce dernier, mais apparemment morts. On devrait repousser doucement vers le fond, à l'aide d'une tige ou d'une pipette de verre les amphipodes aperçus dans la pellicule superficielle de l'eau. On ne devrait pas retirer les sujets qui semblent morts.

4.9 Fin de l'essai

L'essai se termine après 10 jours d'exposition. À ce moment, il faut effectuer l'ensemble final d'observations du nombre d'amphipodes aperçus flottant à la surface de l'eau, nageant dans cette dernière, se déplaçant à la surface du sédiment ou sortis de ce dernier, mais apparemment morts. Immédiatement avant le tamisage du contenu de l'enceinte expérimentale, on devrait prélever à la pipette tous les amphipodes vivants et apparemment morts qui se trouvent dans la colonne d'eau ou à la surface du sédiment. On devrait garder dans de l'eau d'essai contenue dans une boîte de Petri ou dans un autre récipient convenable les sujets inactifs qui ne sont pas manifestement morts (p. ex. non en état de décomposition), puis les examiner de près, au microscope de faible puissance ou à la loupe. On devrait les pousser doucement au moyen d'une fine pointe pour confirmer l'absence de signes vitaux (comme la contraction d'un pléopode). Il faut compter comme morts les animaux qui ne présentent aucun signe de vie avant et après ce petit test.

Pour récupérer les organismes vivants ou morts, on devrait prendre à peu près le même temps pour tamiser le contenu de chaque enceinte expérimentale. Pour s'assurer du

caractère convenable du mode opératoire utilisé pour récupérer les amphipodes, il est recommandé que le personnel de laboratoire préposé au tamisage du contenu des enceintes expérimentales prouve qu'il peut récupérer au moins 90 % en moyenne des organismes du sédiment témoin. Par exemple, on pourrait ajouter au sédiment témoin des organismes d'essai et on pourrait déterminer le taux de récupération après une heure (USEPA, 1994a ; Tomasovic *et al.*, 1995).

Il faut passer le contenu de chaque enceinte expérimentale sur un tamis à ouvertures d'au plus 1,0 mm, pour récupérer tous les organismes qui y subsistent et pour déterminer s'ils sont morts ou vivants. On devrait utiliser pour l'opération de l'eau d'essai dont on aura réglé la salinité et la température aux valeurs existant dans les enceintes expérimentales. On devrait laver les matières retenues sur le tamis en les entraînant dans un bac de triage, au moyen d'eau d'essai propre. On devrait trier un peu des matières à la fois, en récupérant les amphipodes à mesure qu'on les trouve (USEPA, 1994a). On devrait examiner de près, de la façon qui vient d'être décrite, les amphipodes inactifs mais qui ne sont pas manifestement morts et les compter pour morts s'ils ne présentent aucun signe de vie. Les sujets manquants sont présumés morts et sont comptés comme morts dans les calculs (§ 4.10).

4.10 Paramètres ultimes de mesure et calculs

Le paramètre biologique que mesure cet essai toxicologique d'un sédiment entier d'une durée de 10 jours est le taux de survie. On calcule le pourcentage moyen (± σ) des amphipodes ayant survécu à chaque concentration (c'est-à-dire dans chaque ensemble de répétitions de sédiment d'essai). Ce calcul se fonde ordinairement sur 100 organismes par concentration (c'est-à-dire 20 amphipodes exposés à chacun des cinq échantillons répétés ou sous-échantillons ; § 4.1 et 4.7).

Pour permettre ce calcul, on détermine et on note le nombre d'amphipodes qui se sont révélés vivants, morts ou manquants, dans chaque enceinte expérimentale à la dixième journée (§ 4.9). On compte comme morts et désintégrés au cours de l'essai les sujets manquants et on doit les englober dans le nombre de morts par enceinte. On calcule ensuite le taux moyen de survie (± σ) des répétitions correspondant à une variante ou concentration donnée. On compare cette moyenne (± σ) au taux de survie dans le sédiment de référence ou, au besoin, au taux moyen de survie dans le sédiment témoin (consulter à cette fin la section 6).

Section 5

Mode opératoire de l'essai d'un toxique de référence

L'emploi systématique d'un toxique de référence est nécessaire pour évaluer la sensibilité relative des populations d'amphipodes utilisés ainsi que la précision et la fiabilité des résultats obtenus par le personnel de laboratoire sur ce toxique de référence dans des conditions normalisées d'essai. Lorsque l'on détermine la toxicité d'échantillons de sédiment marin ou estuarien pour les amphipodes marins ou estuariens, selon la présente méthode de référence, il faut effectuer un essai toxicologique de référence, ***dans l'eau seulement***, avec chaque lot d'organismes capturés sur le terrain qui serviront à l'essai. Environnement Canada (1990) a publié un guide de base, instructif et utile, sur la maîtrise de la précision des essais toxicologiques à l'aide d'essais toxicologiques de référence dans l'eau seulement.

L'essai toxicologique de référence à effectuer avec chaque lot d'amphipodes doit se dérouler en conditions statiques et déterminer la CL 50 après 96 heures au moyen de chlorure de cadmium de qualité « réactif ». On doit l'entreprendre moins d'une journée après le démarrage de l'essai toxicologique de 10 jours. Normalement, on l'entreprend la même journée (EC, 1992).

L'essai de référence exige au moins six variantes expérimentales (c'est-à-dire un témoin et cinq concentrations de cadmium dans l'eau) et au moins une répétition par variante (USEPA, 1994a). Il se déroule dans des bechers ou des bocaux de verre de 1 L, chacun d'eux renfermant au moins 800 mL de solution d'essai et un minimum de 10 amphipodes. Sauf indication du contraire, toutes les conditions et tous les modes opératoires qui s'appliquent à sa préparation et à sa réalisation doivent être identiques à ceux qui ont été définis dans les sections 2, 3 et 4 du présent document, sauf qu'il n'y a pas de sédiment dans les enceintes expérimentales et qu'il n'est pas nécessaire de faire correspondre des répétitions à chaque concentration. Autre différence : contrairement aux essais toxicologiques des sédiments qui exigent un éclairage vertical ininterrompu des enceintes expérimentales, l'essai de référence doit se dérouler dans l'obscurité (USEPA, 1994a). On recouvre alors les enceintes d'un matériau opaque (p. ex. aluminium en feuille) ou on réalise l'essai dans un local séparé, fermé, non éclairé. Autre distinction : les solutions de cadmium ou l'eau (témoin) dans les enceintes expérimentales ne sont pas aérées, l'oxygène dissous présent dans chaque solution (y compris les solutions témoins) suffisant aux besoins des organismes. On recouvre chaque enceinte pour réduire au minimum la contamination et les pertes dues à l'évaporation.

Lorsque l'on entreprend un essai toxicologique de référence, on devrait choisir une série de concentrations qui, d'après des essais préliminaires ou antérieurs effectués dans les mêmes conditions et suivant les mêmes modes opératoires, aboutiront à des taux de mortalité partielle à au moins deux concentrations et qui permettront le calcul de la CL 50 après 96 h dans des limites de confiance à 95 % suffisamment étroites pour

être acceptables. Les concentrations choisies devraient englober la CL 50 prévue pour l'organisme d'essai (v. annexes D, E, F et G pour des indications spécifiques). On peut utiliser une série de dilutions convenables, dans laquelle chaque concentration successive de cadmium est au moins la moitié de la concentration antérieure. On peut aussi choisir les concentrations d'essai à partir d'autres séries de dilutions logarithmiques convenables (v. Environnement Canada, 1992 ; annexe L).

Pour chaque essai de référence effectué au laboratoire selon le présent mode opératoire, on devrait utiliser une seule espèce d'organisme et le même type d'eau témoin ou de dilution (c'est-à-dire, eau de mer naturelle ou reconstituée), de même origine et ayant subi le même traitement préalable. La salinité de cette eau doit être de 28 ± 2 ‰, et elle devrait être la même dans chaque essai toxicologique de référence effectué avec une espèce donnée dans chaque laboratoire. On doit régler la température de l'eau témoin ou de dilution (à 10 ± 2 °C, pour *A. virginiana* ; à 15 ± 2 °C, pour *R. abronius*, *E. washingtonianus* ou *E. estuarius*) et l'aérer au besoin, pour que la teneur en oxygène dissous soit de 90 à 100 % du degré de saturation, avant de préparer les solutions d'essai et avant d'y transvaser chaque groupe d'animaux. On devrait mesurer journellement la température de la solution dans chaque enceinte expérimentale et on doit la mesurer au début et à la fin de l'essai. La température journalière moyenne au cours de l'essai doit être de 15 ± 2 °C pour *R. abronius*, *E. washingtonianus* ou *E. estuarius* et de 10 ± 2 °C pour *A. virginiana*. Il faut mesurer la teneur en oxygène dissous, la salinité et le pH dans chaque enceinte expérimentale au début et à la fin de l'essai.

À la fin des 96 h d'exposition, on détermine le nombre d'amphipodes vivants et morts (v. § 4.9) et on l'enregistre en regard de chaque variante expérimentale (concentration), y compris le groupe témoin. Les paramètres biologiques de mesure sont le taux de survie correspondant à chaque variante, ainsi que la CL 50 après 96 h. Environnement Canada (1998a) donne des précisions et des conseils définitifs sur le calcul des CL 50, méthodes qui devraient être suivies. Il faut calculer les résultats et les signaler en *mg de Cd/L*.

Les résultats de l'essai de référence employant *R. abronius*, *E. estuarius* ou *A. virginiana* ne sont valides et acceptables que si le taux de survie des témoins à 96 h est d'au moins 90 % (EC, 1992 ; USEPA, 1994a). Ceux qui ont été obtenus avec *E. washingtonianus* ne sont valides et acceptables que si le taux de survie des témoins, à 96 h, est d'au moins 85 % (v. annexe E).

Il incombe au personnel du laboratoire de montrer qu'il est capable d'obtenir des résultats cohérents et précis avec le toxique de référence avant d'effectuer les essais définitifs avec le sédiment à l'aide de la présente méthode de référence. À cette fin, il devrait commencer par déterminer la précision intralaboratoire, exprimée en pourcentage du coefficient de variation (% CV), en effectuant au moins cinq essais de référence avec différents lots de la même espèce, avec du chlorure de cadmium et selon les modes opératoires et les conditions définis dans le présent document. Ces essais devraient viser à acquérir de l'expérience avec le mode opératoire et pour établir un

point de comparaison pour les essais à venir. (USEPA, 1994a).

Dans l'application usuelle de cet essai toxicologique de référence à chaque lot d'amphipodes de la même espèce capturés sur le terrain, le personnel de laboratoire devrait continuer de suivre ce même mode opératoire. Lorsque l'on possède suffisamment de résultats (EC, 1990), on doit reporter successivement les CL 50 calculées à partir de ces essais sur une carte de contrôle établie sur chaque espèce et déterminer chaque fois si elles s'écartent ou non de ± 2 σ des valeurs obtenues au cours des essais antérieurs avec la même espèce, le même toxique de référence (c'est-à-dire le chlorure de cadmium) et le même mode opératoire. On doit établir une carte de contrôle séparée et l'actualiser pour chaque espèce d'amphipode marin ou estuarien utilisée avec la méthode de référence. Cette carte de contrôle devrait représenter le logarithme de la concentration, sur l'axe vertical, en fonction de la date ou du numéro de l'essai, sur l'axe horizontal. On doit comparer chaque nouvelle CL 50 du toxique de référence avec les limites établies sur la carte de contrôle ; la CL 50 est acceptable si elle se situe dans la zone de confiance. Tous les calculs de la moyenne et de l'écart-type devraient être effectués à partir du logarithme de la CL 50.

Dans tous les calculs de la moyenne et de l'écart-type ainsi que sur tous les graphiques, on devrait utiliser le logarithme de la concentration (y compris de la CL 50) . De la sorte, on montre simplement qu'on continue d'adhérer à l'hypothèse selon laquelle chaque CL 50 a été estimée à partir du logarithme de la concentration. On peut construire la carte de contrôle en reportant les valeurs logarithmiques de la moyenne et de ± 2 σ sur du papier graphique arithmétique ou en convertissant ces valeurs en valeurs arithmétiques et en les reportant sur l'échelle logarithmique du papier semi-logarithmique. S'il était démontré que les CL 50 n'épousent pas une distribution log-normale, la valeur arithmétique et l'écart-type pourraient se révéler mieux adaptés à cette fin. On devrait recalculer la moyenne des valeurs connues de log (CL 50) ainsi que les valeurs supérieure et inférieure de la zone de confiance (± 2 σ) avec chaque CL 50 successive au moyen de chaque CL 50 successive jusqu'à ce que les statistiques se stabilisent (EC, 1990 et 1998a ; USEPA, 1994a).

Si une valeur de la CL 50 se situe à l'extérieur de la zone de confiance, on peut douter de la sensibilité des organismes d'essai ainsi que l'exécution et la précision de l'essai. Comme le phénomène pourrait survenir 5 % du temps, par le seul jeu du hasard, une CL 50 aberrante ne signifierait pas nécessairement que le lot d'organismes d'essai est anormalement sensible ou que la précision des données toxicologiques est insatisfaisante. Ce serait plutôt un avertissement qu'il pourrait y avoir problème. On devrait vérifier en profondeur toutes les conditions et de tous les modes opératoires correspondant à l'acclimatation et à la réalisation de l'essai. Selon les conclusions auxquelles mènera cette vérification, il pourrait être nécessaire de répéter l'essai toxicologique de référence ou d'obtenir un nouveau lot d'organismes capturés sur le terrain pour évaluer la toxicité des échantillons de la matière d'essai (par lequel on effectuera un nouvel essai toxicologique de référence).

Les résultats qui se maintiennent dans la zone de confiance pourraient ne pas nécessairement indiquer qu'un laboratoire obtient des résultats constants. Si les données relatives à un toxique de référence étaient extrêmement variables, la zone de confiance serait large ; une nouvelle donnée pourrait, tout en situant dans cette zone représenter une variation indésirable des résultats de l'essai. Environnement Canada (1990) propose comme limite raisonnable un coefficient de variation de pas plus de 30 % et, de préférence, de 20 % ou moins.

Section 6

Analyse et interprétation des données

6.1 Analyse des données

On devrait consulter Environnement Canada (1998a) ainsi que la section 12 de l'USEPA (1994a) pour obtenir des orientations détaillées sur les paramètres statistiques convenables de mesure et leur calcul.

L'objet de l'analyse des données est de quantifier les effets du contaminant sur des sous-groupes d'organismes d'essai (v. § 4.1) exposés à diverses concentrations (variantes) et de déterminer si ces effets sont statistiquement différents de ceux qui se manifestent dans un sédiment de référence ou un sédiment témoin. On commence par calculer pour les paramètres de mesure statistique (c'est-à-dire $\bar{x} \pm \sigma$, du taux de survie au jour 10 ; v. § 4.10) des échantillons répétés représentant chaque variante (y compris celles des groupes de référence et témoins). Chaque étude utilise au moins un témoin (c'est-à-dire au moins cinq groupes d'amphipodes exposés au sédiment témoin de l'un des lieux de capture des organismes d'essai) et au moins une concentration d'essai. Une variante ou concentration d'essai pourrait être constituée d'échantillons répétés de déblais de dragage provenant d'une profondeur ou d'un lieu donné (lieu d'échantillonnage) auquel on s'intéresse ou d'échantillons répétés d'un sédiment prélevé en un point particulier d'un lieu d'immersion ou adjacent à ce lieu. Elle pourrait aussi être constituée d'au moins cinq sous-échantillons (c'est-à-dire de répétitions de laboratoire) d'un seul échantillon (non répété) de sédiment provenant d'un lieu d'échantillonnage donné ou d'une profondeur précise (v. § 4.1). Dans chaque cas, elle est normalement représentée par au moins cinq répétitions. Le même nombre de répétitions par variante devrait être utilisé dans l'essai toutes les fois que c'est possible, afin de maximiser la puissance et la robustesse statistiques.

Si c'est possible, chaque étude d'échantillons du sédiment d'essai devrait comprendre au moins un lieu de référence, pour lequel au moins cinq échantillons répétés ou sous-échantillons feraient partie de l'essai toxicologique (§ 4.1). On devrait soumettre à des comparaisons statistiques les données biologiques obtenues sur les échantillons répétés de chaque variante (c'est-à-dire de sédiment potentiellement contaminé d'un seul lieu d'échantillonnage et d'une seule profondeur) et les données obtenues des échantillons répétés du sédiment de référence, chaque fois que cela est possible et convenable (EC, 1992 ; EC, 1998a et 1998b). Ces comparaisons permettent l'évaluation locale de la toxicité. On devrait effectuer une comparaison statistique des données biologiques relatives au(x) sédiment(s) d'essai et des données relatives au(x) sédiment(s) témoin(s), si les échantillons du sédiment de référence se révèlent inutilisables pour la comparaison avec des échantillons d'autres endroits (p. ex. en raison de leur toxicité ou de leurs caractéristiques physico-chimiques qui sont atypiques pour des sédiments d'essai) ou si le ou les sédiments témoins permettent de mieux distinguer les effets exercés par les contaminants des effets dus à des facteurs de confusion, tels que la taille granulométrique

des sédiments. Que l'on effectue ou non des comparaisons statistiques avec le sédiment de référence ou le sédiment témoin, les résultats expérimentaux obtenus au moyen du sédiment témoin doivent servir de critères de validité ou d'acceptabilité de l'essai (§ 4.6).

Les échantillons de sédiment de référence doivent d'abord satisfaire à la fourchette d'emploi de chaque espèce relativement à la salinité de l'eau de porosité et à la granulométrie du substrat (v. § 2.6), si on doit les intégrer dans un essai toxicologique du sédiment. Vu les critères spécifiques de validité des essais intégrés dans la présente méthode (§ 4.6), qui reflètent la capacité quelque peu différente des quatre espèces de survivre à 10 jours d'exposition au sédiment non contaminé, nous formulons les recommandations suivantes pour juger s'il y a lieu ou non de comparer les paramètres ultimes de mesure correspondant aux sédiments d'essai à ceux qui correspondent au sédiment de référence :

- Le taux moyen de survie après 10 jours dans les échantillons répétés de sédiment de référence doit être d'au moins 80 % chez *R. abronius* ou *E. estuarius*, pour être admissible ou acceptable pour la comparaison avec les résultats obtenus avec les sédiments d'essai.
- Le taux moyen de survie après 10 jours dans les échantillons répétés de sédiment de référence doit être d'au moins 75 % chez *E. washingtonianus*, pour être admissible ou acceptable pour la comparaison avec les résultats obtenus avec les sédiments d'essai.
- Le taux moyen de survie après 10 jours dans les échantillons répétés de sédiment de référence doit être d'au moins 70 % chez *A. virginiana*, pour être admissible ou acceptable pour la comparaison avec les résultats obtenus avec les sédiments d'essai.

Pour juger de la comparabilité des données toxicologiques sur le(s) sédiment(s) d'essai et le sédiment de référence, on admet un taux de survie moyen spécifique inférieur de 10 % au critère respectif de validité de l'essai, le taux de survie moyen après 10 jours dans le sédiment témoin (v. § 4.6). Dans chaque cas, cela autorise un taux de survie moyen après 10 jours minimal qui est semblable et quelque peu (c'est-à-dire jusqu'à 10 %) inférieur dans le sédiment de référence par rapport au taux observé dans le sédiment témoin. Cette marge tient compte d'une de la possibilité d'une survie moindre dans le sédiment de référence en raison de ses caractéristiques physico-chimiques différentes (p. ex. la granulométrie) de celles du sédiment auquel les organismes d'essai sont habitués (c'est-à-dire le sédiment témoin).

Les méthodes et l'interprétation statistiques des résultats devraient convenir au plan d'expérience et à l'objet de l'étude (consulter USEPA/USACE, 1991 ; USEPA, 1994a ; EC, 1998a et EC, 1998b). À l'aide de cette méthode de référence, on effectue normalement des comparaisons appariées des données sur la survie à chaque variante expérimentale en fonction des données sur la survie tirées d'un sédiment de référence ou témoin particulier. Au début, on devrait vérifier la normalité de toutes les données à l'aide du *test de Shapiro-Wilk* et déterminer l'homogénéité de la variance à l'aide du *test Bartlett* ou de tout autre test convenable (USEPA, 1994a). Ces méthodes et d'autres méthodes statistiques figurent dans les

méthodes *TOXSTAT*, série de programmes statistiques sur disquette distribuée par WEST, Inc. (2003 Central Avenue, Cheyenne, WY, USA). La disquette comprend également le mode d'emploi des programmes TOXSTAT.

On devrait traiter les données sur la survie qui satisfont au test de normalité et d'homogénéité de la variance par une comparaison par paires des résultats de chaque variante expérimentale avec les résultats obtenus avec le milieu de référence ou le milieu témoin (v. la discussion ultérieure sur la question). À cette fin, on devrait utiliser le *test* t *de Student* unilatéral. Si un ensemble de données ne peut pas satisfaire aux exigences de la normalité et de l'homogénéité de la variance, on devrait leur appliquer une transformation de variables (racine carrée, arc-sinus) puis tester à nouveau les deux conditions (USEPA, 1994a). Si les données transformées ne satisfont pas à l'hypothèse de la normalité, on peut appliquer des tests non paramétriques tels que le *test de la somme des rangs de Wilcoxon* (USEPA, 1994a) ou d'autres tests convenables. Si les données transformées satisfont à l'hypothèse de la normalité, on devrait utiliser le test de Bartlett ou le *test F de Hartley* pour vérifier l'homogénéité de l'hypothèse de la variance. Si la variance ne répond pas à la condition d'homogénéité, il faut utiliser un test *t* de Student unilatéral modifié, à degrés de liberté corrigés (USEPA, 1994a). Les variables transformées qui ne satisfont ni aux exigences de la normalité de la distribution ni à celles de l'homogénéité de la variance devraient subir un test simple de comparaison par paires à l'aide d'un test *t* de Student unilatéral.

6.2 Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats ne relève pas nécessairement de la seule responsabilité du personnel de laboratoire entreprenant l'essai ; ce pourrait être une tâche partagée entre un consultant du domaine de l'environnement ou d'autres personnes compétentes chargées d'examiner et d'interpréter les résultats.

Environnement Canada (1998b) donne des conseils utiles sur l'interprétation et l'application des résultats des essais toxicologiques portant sur des échantillons prélevés dans l'environnement ; il faudrait s'y reporter pour obtenir des orientations sur ces points. Au début, on devrait examiner les résultats et déterminer s'ils sont valides. À cet égard, il faut satisfaire aux critères spécifiques de validité de l'essai (v. § 4.6).

Au cours de l'étape de l'interprétation de l'étude, on devrait examiner les conclusions de l'essai toxicologique de référence qui a porté sur le même lot d'organismes que ceux qui ont servi dans l'essai toxicologique des sédiments (v. section 5). Ces résultats, lorsqu'on les compare aux résultats des essais antérieurs du laboratoire ayant employé le même toxique de référence, le même organisme d'essai et le même mode opératoire (c'est-à-dire comparés à la carte de contrôle du laboratoire établie pour cet essai toxicologique de référence), donnent une idée de sensibilité des organismes d'essai de même que de la précision et des performances expérimentales du laboratoire au moment où il a effectué l'essai toxicologique du sédiment.

On devrait examiner et prendre en considération, dans l'interprétation des

résultats, de toutes les données représentant les caractéristiques physico-chimiques connues de chaque échantillon de matière d'essai (y compris du sédiment témoin et de référence). On devrait comparer les résultats de l'analyse du sédiment entier et l'eau de porosité (v. § 4.3) aux limites connues de tolérance et aux limites d'emploi de l'amphipode utilisé dans l'essai (v. annexes D, pour *R. abronius*, E, pour *E. washingtonianus*, F, pour *E. estuarius*, et G, pour *A. virginiana*). Les valeurs qui approchent (mais sans les excéder) les limites connues de tolérance (p. ex. pour l'ammoniaque) ou les limites d'emploi (c'est-à-dire pour la granulométrie du sédiment ou de la salinité de l'eau de porosité) de chaque espèce pourraient réduire leur tolérance aux contaminants dans l'échantillon et, ainsi, avoir influé sur les résultats de l'essai.

L'eau de porosité des échantillons de déblais de dragage ou de sédiment estuarien ou marin prélevés sur le terrain peut renfermer de fortes concentrations d'ammoniaque, de sulfure d'hydrogène ou des deux. Cela pourrait être dû à un « enrichissement » en matières organiques d'origine naturelle ou anthropique (attribuable à l'homme). On devrait prendre en considération les limites connues de tolérance de l'espèce d'essai ainsi que les concentrations mesurées de ces constituants toxiques, lorsque l'on évalue leur influence sur les résultats de l'essai. On devrait convertir les concentrations mesurées d'ammoniaque en concentrations d'ammoniac non ionisé (d'après les conditions observées de température et de pH au cours de l'essai) et on devrait prendre en considération les concentrations d'ammoniaque totale et d'ammoniac non ionisé relativement aux limites signalées de tolérance à ces substances.

On devrait également examiner et prendre en considération, dans l'interprétation des conclusions, toutes les données physico-chimiques déterminées à l'égard de l'eau surnageante au cours de l'essai toxicologique du sédiment (v. § 4.8). Si, par exemple, d'après les enregistrements, la concentration d'oxygène dissous dans l'eau surnageante d'au moins une enceinte expérimentale tombe sous le taux de 60 % de saturation, cette baisse pourrait avoir contribué à toute réaction toxique observée dans l'enceinte (ASTM, 1993 ; USEPA, 1994a). On devrait déterminer de même tout écart enregistré de la température de l'eau au-delà des limites acceptables (§ 4.5) et l'évaluer conjointement avec les résultats de l'essai et à leur interprétation. À l'instar des teneurs en ammoniaque de l'eau de porosité, celles de l'eau surnageante, au début et à la fin de l'essai (§ 4.8) devraient également être converties en teneurs respectives en ammoniac non ionisé (d'après les mesures simultanées du pH et de la température dans l'eau surnageante). On devrait prendre ces valeurs en considération en même temps que la tolérance connue des espèces à l'ammoniaque, dans l'interprétation des résultats de l'essai.

On devrait examiner le nombre d'observations d'animaux aperçus nageant dans l'eau, flottant à sa surface ou sortis du sédiment au cours de l'essai (§ 4.8) et le prendre en considération avec le nombre d'observations d'un début de réaction d'évitement dans la première heure de l'essai (§ 4.7). On devrait évaluer tout indice d'une réaction d'évitement à un ou à plusieurs échantillons ou concentrations et les interpréter en conjonction avec les résultats des analyses physico-chimiques (du sédiment

entier et de l'eau de porosité ; § 4.3) des mêmes échantillons.

L'objet de l'essai toxicologique du sédiment est de déterminer si au moins un sédiment d'essai est toxique pour les organismes, en appliquant les conditions et les modes opératoires de la présente méthode. Les chercheurs et les législateurs ont utilisé divers critères pour déterminer si les échantillons d'un sédiment d'essai satisfont ou non à un essai toxicologique d'une durée de 10 jours employant des amphipodes marins ou estuariens. Par exemple, des chercheurs ont estimé que le sédiment d'essai est toxique si la survie au bout de 10 jours diffère notablement de celle des témoins, d'après les résultats du test *t* de Student (Schlekat *et al.*, 1995). D'autres ont conclu qu'on devrait considérer comme significatifs les taux moyens de survie qui, au bout de 10 jours dans le sédiment d'essai, sont inférieurs à 80 % (avec *R. abronius*) et sont statistiquement différents des taux observés dans le sédiment de référence (Scott *et al.*, 1990). Selon l'USEPA (1994b), [...] *les déblais de dragage ne satisfont pas aux critères de toxicité en milieu benthique si le taux de mortalité observé dans les essais de ces déblais excèdent le taux observé dans le sédiment de référence de plus de 20 %, dans le cas des amphipodes (20 % représentent l'écart décelable minimal de la méthode d'essai).* Les lignes directrices intérimaires appliquées par les chercheurs et les responsables du respect des règlements à Environnement Canada se sont largement inspirées de l'USEPA (1994b) pour déterminer si les sédiments d'essai satisfont ou non aux critères de toxicité selon un essai toxicologique d'une durée de 10 jours employant des amphipodes marins ou estuariens, mais elles se sont également inspirées d'autres critères, fondées sur la comparaison des résultats avec ceux que donne un sédiment témoin, en l'absence d'un sédiment de référence acceptable (Lee *et al.*, 1995 ; EC, 1997).

Conformément à Environnement Canada (1997), on recommande d'appliquer le double critère suivant pour décider si les échantillons d'un sédiment d'essai passent ou non l'essai toxicologique d'une durée de 10 jours effectué conformément à la présente méthode de référence :

- Le sédiment d'essai provenant d'un lieu ou d'une profondeur donnés d'échantillonnage est estimé n'avoir pas passé le test toxicologique si le taux moyen de survie au bout de 10 jours des groupes répétés d'organismes exposés à ce sédiment est inférieur de plus de 20 % au taux de survie des organismes exposés au sédiment de référence et s'il en est significativement différent.
- Faute d'un sédiment de référence acceptable, on estime que le sédiment d'essai ne passe pas pas l'essai toxicologique si le taux moyen de survie au bout de 10 jours chez les groupes répétés d'organismes exposés à ce sédiment est inférieur de plus de 30 % au taux de survie des organismes exposés au sédiment témoin et en est significativement différent.

Section 7

Rapports à produire

Le procès-verbal de chaque essai doit mentionner tout écart par rapport aux exigences exposées dans les sections 2 à 6 et, le cas échéant, fournir chaque fois des précisions. Le lecteur doit pouvoir établir si les conditions et les modes opératoires expérimentaux et préalables ont rendu les résultats valides et acceptables pour l'usage qu'on entend en faire.

Le § 7.1 énumère les renseignements à intégrer dans le procès-verbal de l'essai ; le § 7.2, les renseignements soit à intégrer dans le procès-verbal de l'essai, soit à communiquer séparément dans un rapport général, soit à archiver pour au moins cinq ans. Des programmes de surveillance ou des règlements pourraient exiger de faire figurer dans le procès-verbal certains des renseignements énumérés dans le § 7.2 (p. ex. des précisions sur les substances d'essai ou les modes opératoires et conditions précis ayant coïncidé avec le prélèvement des échantillons, leur manutention, leur transport et leur entreposage) ou *de les reléguer à l'archivage*.

À l'égard de modes opératoires et de conditions communs à une série d'essais courants (p. ex. les essais toxicologiques usuels de surveillance ou de contrôle de la conformité aux règlements), correspondant aux exigences énoncées dans le présent document, on peut renvoyer à un rapport général ou joindre ce dernier. Dans ce rapport, on expose dans ses grandes lignes la pratique ordinairement suivie au laboratoire.

On devrait archiver au laboratoire, pour au moins cinq ans, les détails se rapportant à la réalisation et aux constatations de l'essai, qui ne sont pas reproduites dans le procès-verbal ni dans le rapport général, de sorte que l'on peut fournir l'information convenable si l'essai doit faire l'objet d'une vérification (audit). L'information archivée devrait comprendre les éléments suivants :

- L'enregistrement de la chaîne de transmission des échantillons prélevés sur le terrain ou des autres échantillons analysés dans un dessein de surveillance ou de réglementation ;
- Copie du dossier d'acquisition de l'échantillon ou des échantillons ;
- Les résultats d'analyses chimiques de l'échantillon ou des échantillons qui ne figurent pas dans le procès-verbal de l'essai ;
- Les notes d'observations et de mesure en laboratoire prises au cours de l'essai ;
- Les notes de laboratoire et les cartes de contrôle portant sur les essais toxicologiques de référence ;
- Les dossiers détaillés concernant l'origine des organismes d'essai, la confirmation d'identité de l'espèce et toute l'information pertinente sur leur capture, leur transport, leur manutention, leur acclimatation et leur état de santé ;
- Des renseignements sur l'étalonnage de l'équipement et des instruments.

Le personnel de laboratoire effectuant les essais doit signer ou parafer l'original des feuilles de données.

7.1 Exigences minimales pour le procès-verbal de l'essai

Voici la liste des renseignements à intégrer obligatoirement dans chaque procès-verbal de l'essai.

7.1.1 Matière d'essai

- Une courte description du type d'échantillon (p. ex. déblais de dragage, sédiment de référence, sédiment prélevé sur le terrain et contaminé ou potentiellement contaminé, sédiment témoin) ou son code, fourni par le personnel de laboratoire ;
- Des renseignements sur l'étiquetage ou le codage de chaque échantillon ;
- Les dates du prélèvement de l'échantillon ; la date à laquelle le ou les échantillons ont été reçus au laboratoire.

7.1.2 Organismes d'essai

- Espèces, origine et date de leur capture ;
- Tout aspect, comportement ou traitement inhabituels des organimes, avant leur emploi dans l'essai.

7.1.3 Installations

- Les nom et adresse du laboratoire d'essai ;
- Le nom de la personne ou des personnes ayant réalisé l'essai.

7.1.4 Eau d'essai

- Type, source et salinité de l'eau d'essai ;
- Caractéristiques mesurées de l'eau d'essai, avant le début et au début de l'essai toxicologique.

7.1.5 Méthode d'essai

- Mention de la méthode d'essai biologique utilisée (c'est-à-dire conformément au présent document) ;
- Fréquence des observations et des mesures faites au cours de l'essai et leur type ;
- Nom du ou des programmes ainsi que des méthodes de calcul des paramètres statistiques de mesure et citations à l'appui.

7.1.6 Conditions expérimentales et modes opératoires

- Les motifs et la description de tout écart aux modes opératoires et aux conditions ou de l'exclusion de modes opératoires et de conditions exposés dans le présent document ;
- Le nombre d'échantillons discrets par variante (concentration) ; le nombre d'enceintes expérimentales par variante ; le nombre et la description des variantes dans chaque essai, y compris le ou les témoins ;
- Le volume de sédiment et l'eau surnageante dans chaque enceinte expérimentale ;
- Le nombre d'organismes par enceinte expérimentale et par variante ;
- Les dates du début et de la fin de l'essai ;

- Pour chaque échantillon, le pourcentage de sédiment très grossier (c'est-à-dire d'une taille de plus de 1,0 mm), de sables, de limons, d'argiles, d'eau, la teneur en carbone organique total ; la salinité de l'eau de porosité, son pH et sa teneur en ammoniaque ;
- Dans au moins une enceinte expérimentale représentant chaque variante — toutes les mesures de la température, de l'oxygène dissous, de la salinité, de l'ammoniaque et du pH dans l'eau surnageante ;
- Toute mesure montrant que la teneur en oxygène dissous est inférieure au taux de saturation de 60 % dans l'eau surnageante, dans toute enceinte expérimentale.

7.1.7 Résultats

- Le pourcentage moyen (± σ) d'amphipodes ayant survécu dans chaque variante (y compris le témoin) au cours des 10 journées de l'essai, ainsi que les résultats de toute comparaison statistique par paire ;
- Les CL 50 après 96 h (y compris leurs limites de confiance à 95 %) du chlorure de cadmium, en mg de Cd/L, chez le même lot d'organismes ; la moyenne géométrique (± 2 σ) de ce toxique de référence et de l'espèce d'essai, obtenue au laboratoire à la faveur d'essais antérieurs, conformément au mode opératoire et aux conditions exposées dans le présent document ;
- Tout phénomène inhabituel relatif à l'essai, tout écart aux modes opératoires décrits dans le présent rapport, tout problème observé, toute mesure prise pour y remédier.

7.2 Exigences supplémentaires

Voici la liste des renseignements qu'il faut faire figurer soit dans le procès-verbal de l'essai, soit dans le rapport général ou, encore, qu'il faut archiver pour au moins cinq ans.

7.2.1 Matière d'essai

- Le nom des préleveurs ou des fournisseurs des échantillons ;
- La chaîne de transmission et les fiches d'inscription des échantillons ;
- L'état (p. ex. température, obscurité, récipient scellé) dans lequel se trouvaient les échantillons à leur réception et pendant leur entreposage.

7.2.2 Organismes d'essai

- Lieu de capture et nom du fournisseur des organismes ;
- conditions et modes opératoires au cours de la capture (p. ex. état de la marée et de la mer, capture par bateau ou par seine à partir de la grève, capture par drague ou à la pelle, méthodes de tamisage et de manutention sur le terrain) ;
- Nom de la personne ou des personnes qui ont identifié l'espèce et les lignes directrices taxonomiques utilisées pour en confirmer l'identité ;
- Le nombre estimatif d'amphipodes transférés dans chaque récipient de collecte, de conservation ou d'acclimatation fourni par le ou les personnes les ayant capturés ; toute observation concernant l'état, l'aspect et

le comportement des amphipodes à leur réception au laboratoire ; le nombre de cadavres, de sujets atypiques ou de sujets apparemment en mauvais état de santé retirés de chaque récipient susmentionné au cours de la période précédant le tamisage et la collecte des sujets à répartir dans les enceintes expérimentales ;

- Description des conditions dans lesquelles les sujets ont été conservés et acclimatés (installations ; source et intensité de l'éclairage à la surface de l'eau surnageante dans les viviers et les aquariums d'acclimatation ; source et qualité de l'eau de mer ; traitement préalable de l'eau ; débit de remplacement de l'eau et densité estimative des amphipodes dans les viviers et les aquariums d'acclimatation ; salinité, température, teneur en oxygène dissous et pH au cours de la conservation et de l'acclimatation) ;
- Longueur totale moyenne du corps (avec intervalle et taille de l'échantillon) des amphipodes utilisés dans l'essai ;
- Méthodes utilisées pour compter, manipuler, trier, transvaser et tamiser les animaux ; méthodes utilisées pour déterminer leur mortalité, leur état, leur aspect et leur comportement.

7.2.3 Installations et appareillage expérimentaux

- Description de l'expérience du laboratoire dans l'application de la présente méthode de référence ;
- Description des systèmes d'éclairage et de fourniture d'air comprimé ainsi que de régulation de la température dans le laboratoire ;
- Description des enceintes expérimentales ;
- Description des modalités de nettoyage ou de rinçage de l'appareillage.

7.2.4 Eau d'essai

- Nature et quantité de tout produit chimique ajouté à l'eau d'essai ;
- Mode opératoire du réglage de la salinité, de la température et de la teneur en oxygène dissous ;
- Conditions et durée d'entreposage avant l'emploi.

7.2.5 Méthode d'essai

- Méthodes utilisées (citations à l'appui) pour les analyses chimiques des matières d'essai (sédiment et eau de porosité) ainsi que de l'eau d'essai, y compris les détails concernant l'échantillonnage de parties aliquotes, leur préparation et leur entreposage avant l'analyse.

7.2.6 Conditions expérimentales et modes opératoires

- Mesures de l'intensité de l'éclairage près de la surface de l'eau dans les enceintes expérimentales ;
- Déclaration concernant les conditions (fréquence et manière) d'aération de l'eau surnageante dans les enceintes expérimentales avant et durant l'essai ;
- Enregistrement de toute panne survenue dans l'aération des enceintes expérimentales et mesures connexes de l'oxygène dissous ;

- Aspect de chaque échantillon et de l'eau surnageante dans les enceintes expérimentales ; modification de l'aspect observée au cours de l'essai ;
- Tout autre dosage ou mesure chimique (p. ex. des contaminants, des sulfures volatils acides, de la demande biochimique d'oxygène, de la demande chimique d'oxygène, du carbone inorganique total, de la capacité d'échange cationique, du potentiel Redox, du sulfure d'hydrogène dans l'eau de porosité, de l'ammoniaque de l'eau de porosité) effectués avant et pendant l'essai, sur la matière d'essai (y compris le sédiment témoin et de référence) et le contenu des enceintes expérimentales ; également analyses du sédiment entier, de l'eau de porosité et de l'eau surnageante ;
- Toute autre observation ou analyse effectuée sur la matière d'essai (y compris sur les échantillons de sédiment témoin ou de référence) ; p. ex. traces d'animaux, données qualitatives ou quantitatives concernant la macrofaune indigène ou les détritus, les analyses géochimiques ;
- Analyses chimiques de la concentration de cadmium dans les solutions d'essai du toxique de référence.

7.2.7 Résultats des essais

- Enregistrement des observations de l'aspect et du comportement des amphipodes au début de l'essai et dans la première heure qui suit (c'est-à-dire de leurs réactions apparentes d'évitement) ; enregistrement du nombre d'amphipodes remplacés au cours de cette période ;
- Enregistrement du nombre d'animaux observés nageant dans l'eau, flottant à sa surface, se déplaçant à la surface du sédiment ou sortis de ce dernier mais apparemment morts, au cours de chaque période d'observation ; enregistrement du nombre de survivants, de morts et de manquants (ceux-ci présumés morts) à la fin de l'essai ;
- Carte de contrôle montrant les résultats les plus récents et l'historique des résultats des essais toxicologiques effectués avec le toxique de référence ;
- Les notes originales de laboratoire et les autres feuilles de données, signées et datées par le personnel de laboratoire ayant effectué l'essai et les analyses connexes.

Travaux cités

APHA, AWWA, WEF (American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation), « Toxicity », Part 8000, dans : *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19e éd., APHA, AWWA, et WEF, Washington, DC (1995).

ASTM (American Society for Testing and Materials), « Guide for Conducting 10-day Static Sediment Toxicity Tests with Marine and Estuarine Amphipods », E1367-92, p. 1138-1163, dans : *Annual Book of ASTM Standards*, Vol. 11.04, Philadelphie, PA (1993).

BAILEY, H.C., A. TANG, J.V. STEWART, « Sensitivity of the Amphipod *Eohaustorius estuarius* and the Polychaete *Neanthes arenaceodentata* to Ammonia, a Potentially Toxic Component of Sediments », p. 170–173, dans : *Proceedings 23rd Annual Aquatic Toxicity Workshop*, 7 au 9 octobre 1996, Calgary (Alb.), J.S. GOUDEY, S.M. SWANSON, M.D. TREISSMAN, A.J. NIIMI (éd.), *Canad. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* No. 2144 (1997).

BOWER, C.E. , J.P. BIDWELL, « Ionization of Ammonia in Sea Water: Effects of Temperature, pH and Salinity », *J. Fish. Res. Board Can. 35 (7)*:1012–1016 (1978).

DEWITT, T.H., R.C. SWARTZ, J.O. LAMBERSON, « Measuring the Acute Toxicity of Estuarine Sediments », *Environ. Toxicol. Chem., 8*:1035–1048 (1989).

DOE, K., données inédites, Laboratoire régional de l'Atlantique, Environnement Canada, Dartmouth (N.-É.) [1997].

DOE, K., données inédites, Laboratoire régional de l'Atlantique, Environnement Canada, Dartmouth (N.-É.) [1998].

DOE, K. , P. JACKMAN, données inédites, Laboratoire de toxicologie, Environnement Canada, Moncton (N.-B.) [1998].

EC (Environnement Canada), *Document d'orientation sur le contrôle de la précision des essais de toxicité au moyen de produits toxiques de référence*, Conservation et protection, Ottawa, rapport SPE 1/RM/12, 91 p. (1990).

EC (Environnement Canada), *Méthode d'essai biologique : essai de toxicité aiguë de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens*, Conservation et protection, Ottawa, rapport SPE 1/RM/26, 99 p (1992, y compris les modifications apportées en octobre 1998). (1992).

EC (Environnement Canada), *Document d'orientation sur le prélèvement et la préparation de sédiments en vue de leur caractérisation physico-chimique et d'essais biologiques*, Service de la protection de l'environnement, Ottawa, rapport SPE 1/RM/29, 144 p. (1994).

EC (Environnement Canada), *Users Guide to the Application Form for Ocean Disposal*, Division du milieu marin, Ottawa, rapport EPS 1/MA/1 (1995).

EC (Environnement Canada), *1996–97 Discussion Paper on Ocean Disposal*

and Cost Recovery, rapport inédit, Programme d'immersion en mer, Division du milieu marin, Ottawa (1997).

EC (Environnement Canada), *Guidance Document on Statistical Methods to Determine Endpoints of Toxicity Tests*, Service de la protection de l'environnement, Ottawa, rapport EPS 1/RM/xx, en préparation (1998a).

EC (Environnement Canada), *Document d'orientation sur la détermination statistique des résultats des essais de toxicité*, Service de la protection de l'environnement, Ottawa, rapport SPE 1/RM/xx, en préparation (1998b).

FENNELL, M., données inédites, Section de la toxicologie en milieu aquatique, Centre des sciences de l'environnement du Pacifique, Environnement Canada, North Vancouver (C.-B.) [1997].

FENNELL, M., données inédites, Section de la toxicologie en milieu aquatique, Centre des sciences de l'environnement du Pacifique, Environnement Canada, North Vancouver (C.-B.) [1998].

KOHN, N.P., J.Q. WORD, D.K. NIYOGI, L.T. ROSS, T. DILLON, D.W. MOORE, « Acute Toxicity of Ammonia to Four Species of Marine Amphipod », *Marine Environ. Research, 38*:1–15 (1994).

LEE, D.L., données inédites, préparé par le Laboratoire régional du Pacifique et du Yukon pour le Programme du contrôle du l'immersion en mer, Environnement Canada, North Vancouver (C.-B.) [1994].

LEE, D.L. , M. FENNELL, données inédites : *Comparison of Two Species of Amphipods*, Eohaustorius washingtonianus *and* Rhepoxynius abronius *in 10-d Amphipod Sediment Bioassays - Salinity Effects*, préparé par le Laboratoire régional du Pacifique et du Yukon pour le Programme du contrôle du l'immersion en mer, Environnement Canada, North Vancouver (C.-B.) [1995].

LEE, D.L., S.G. YEE, M. (VAN RIKXOORT) FENNELL, D.L. SULLIVAN, *Biological Assessment of Three Ocean Disposal Sites in Southern British Columbia*, rapport 95-07 du Programme régional, Programme de contrôle de l'immersion en mer, Environnement Canada, North Vancouver (C.-B.) [1995].

LONG, E.R., M.F. BUCHMAN, S.M. BAY, R.J. BRETELER, R.S. CARR, P.M. CHAPMAN, J.E. HOSE, A.L. LISSNER, J. SCOTT, D.A. WOLFE, « Comparative Evaluation of Five Toxicity Tests with Sediments from San Francisco Bay and Tomales Bay, California », *Environ. Toxicol. Chem., 9*:1193–1214 (1990).

MCLEAY, D., S. YEE, K. DOE, *Phase-II and Phase-III Studies by Environment Canada Laboratories of 10-day Tests for Sediment Toxicity Using Marine or Estuarine Infaunal Amphipods*, rapport préparé par Environnement Canada (PE, CP) et le GITA par McLeay Associates Ltd., West Vancouver (C.-B.) [1991].

PAINE, M.D. , C.A. MCPHERSON, *Phase-V Studies by EC Laboratories of 10-day Tests for Sediment Toxicity Using Marine or Estuarine Infaunal Amphipods*, rapport final, décembre 1991, préparé pour Environnement Canada (Division du milieu marin, PE, CP) et McLeay Associates Ltd. par EVS Consultants Ltd., North Vancouver (C.-B.) [1991a].

PAINE, M.D. , C.A. MCPHERSON, *Phase IV Studies of 10-day Tests for Sediment Toxicity Using Marine or Estuarine Infaunal Amphipods*, rapport final, août 1991, préparé pour Environnement Canada (Division du milieu marin, PE, CP) par EVS Consultants Ltd., North Vancouver (C.-B.) [1991b].

PINZA, M.R., N.P. KOHN, S.L. OHLROGGE, C.J. FERGUSON, J.Q. WORD, « Reducing the Effects of Total Ammonia in 10-day Sediment Toxicity Tests with the Amphipod, *Rhepoxynius abronius* », dans : D.A. Bengtson , D.S. Henshel, éd., *Environmental Toxicology and Risk Assessment: Biomarkers and Risk Assessment*, ASTM STP 213, American Society for Testing and Materials, Philadelphie, PA (1997).

SCHLEKAT, C.E., K.J. SCOTT, R.C. SWARTZ, B.A. BRECHT, L. ANTRIM, K. DOE, S. DOUGLAS, J.A. FERRETTI, D.J. HANSEN, D.W. MOORE, C. MUELLER, A. TANG, « Interlaboratory Comparison of a 10-day Sediment Toxicity Test Method Using *Ampelisca abdita, Eohaustorius estuarius* and *Leptocheirus plumulosus* », *Envir. Toxicol. Chem., 14*:2163–2174 (1995).

SCOTT, J., W. BERRY, D. COBB, D. KEITH, G. TRACEY, N. RUBINSTEIN, *The Application of the Amphipod Ten-day Sediment Toxicity Test for Dredged Material Evaluations*, contribution d'ERL-Naragansett 1181, préparée pour la United States Environmental Protection Agency, région II, New York, NY (1990).

SIMS, J.G. , D.W. MOORE, *Risk of Pore Water Ammonia Toxicity in Dredged Material Bioassays*, document hors-série D-95-3, novembre 1995, rapport final, U.S. Army Corps of Engineers, Washington, DC (1995a).

SIMS, J.G. , D.W. MOORE, *Risk of Pore Water Hydrogen Sulphide Toxicity in Dredged Material Bioassays*, document hors-série D-95-4, novembre 1995, rapport final, U.S. Army Corps of Engineers, Washington, DC (1995b).

SULLIVAN, D.L., D.L. LEE, K. KIM, D. BROTHERS, *Chemistry and Biological Assessment of Sediments from Various Inlets on British Columbia's West Coast*, rapport 97-03 du Programme régional (en préparation), Programme de contrôle de l'immersion en mer, Section des programmes industriels, Environnement Canada, North Vancouver (C.-B.) [1998a].

SULLIVAN, D.L., D.L. LEE, K. KIM, D. BROTHERS, *Biological Assessment of Sediments from Ganges Harbour, British Columbia*, rapport 97-04 du Programme régional (en préparation), Programme de contrôle de l'immersion en mer, Section des programmes industriels, Environnement Canada, North Vancouver (C.-B.) [1998b].

SWARTZ, R.C., W.A. DEBEN, J.K.P. JONES, J.O. LAMBERSON, F.A. COLE, « Phoxocephalid Amphipod Bioassay for Marine Sediment Toxicity », p. 284–307, dans : *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Seventh Symposium*, R.D. CARDWELL, R. PURDY, R.C. BAHNER (éd.), ASTM STP 854, American Society for Testing and Materials, Philadelphie, PA (1985).

SWARTZ, R.C., F.A. COLE, J.O. LAMERBSON, S.P. FERRARO, D.W.

SCHULTS, W.A. DEBEN, H. LEE II, R.J. OZRETICH, « Sediment Toxicity, Contamination and Amphipod Abundance at a DDT- and Dieldrin-contaminated Site in San Francisco Bay », *Environ. Toxicol. Chem.*, *13*:949–962 (1994).

TAY, K.-L., K. DOE, P. JACKMAN, A. MACDONALD, *Assessment and Evaluation of the Effects of Particle Size, Ammonia, and Sulfide on the 10-day Amphipod Sediment Acute Lethality Test*, manuscrit en préparation, Environnement Canada, région de l'Atlantique (1998).

TOMASOVIC, M., F.J. DWYER, I.E. GREER, C.G. INGERSOLL, « Recovery of Known-age *Hyalella azteca* (Amphipoda) from Sediment Toxicity Tests », *Environ. Toxicol. Chem.*, *14*:1177–1180 (1995).

TRUSSELL, R.P., « The Percent Un-ionized Ammonia in Aqueous Ammonia Solutions at Different pH Levels and Temperatures », *J. Fish. Res. Board Can.*, *29*:1505–1507 (1972).

USEPA (United States Environmental Protection Agency), *Ambient Water Quality Criteria for Ammonia - 1984*, rapport EPA 440/5-85-001, USEPA, Washington, DC (1985).

USEPA (United States Environmental Protection Agency), *Methods for Assessing the Toxicity of Sediment-associated Contaminants with Estuarine and Marine Amphipods*, rapport EPA 600/R-94/025, juin 1994, USEPA, Office of Research and Development, Narragansett, RI (1994a).

USEPA, (United States Environmental Protection Agency), *U.S. Procedures and Criteria for Determining the Acceptability of Dredged Material for Ocean Disposal*, rapport inédit, juillet 1994, Office of Water, Washington, DC (1994b).

USEPA/USACE (United States Environmental Protection Agency/United States Army Corps of Engineers), *Evaluation of Dredged Material Proposed for Ocean Disposal — Testing Manual*, rapport EPA-503/8-91/001, préparé par USEPA/USACE, Washington, DC (1991).

WADE, S. , K. DOE, données inédites, Laboratoire régional de l'Atlantique, Environnement Canada, Dartmouth (N.-É.) [1992].

Annexe A

Membres du Groupe intergouvernemental de la toxicité aquatique (octobre 1998)

Gouvernement fédéral (Environnement Canada)

C. Blaise
Centre Saint-Laurent
Montréal

S. Blenkinsopp
Direction générale de l'avancement des technologies environnementales
Edmonton

C. Boutin
Centre national de la recherche faunique
Hull (Qc)

C. Buday
Centre des sciences de l'environnement du Pacifique
North Vancouver (C.-B.)

A. Chevrier
Division du milieu marin
Hull (Qc)

K. Day
Institut national de recherche sur les eaux
Burlington (Ont.)

K. Doe
Direction de la conservation de l'environnement
Moncton (N.-B.)

G. Elliott
Laboratoire d'écotoxicologie
Edmonton (Alb.)

M. Fennell
Centre des sciences de l'environnement du Pacifique
North Vancouver (C.-B.)

M. Harwood
Centre Saint-Laurent
Montréal

P. Jackman
Direction de la conservation de l'environnement
Moncton (N.-B.)

R. Kent
Direction de l'évaluation et de l'interprétation
Hull (Qc)

N. Kruper
Laboratoire d'écotoxicologie
Edmonton (Alb.)

D. MacGregor
Centre de technologie environnementale
Gloucester (Ont.)

D. Moul
Centre des sciences de l'environnement du Pacifique
North Vancouver (C.-B.)

W.R. Parker
Région de l'Atlantique
Dartmouth (N.-É.)

L. Porebski
Division du milieu marin
Hull (Qc)

D. Rodrigue
Centre de technologie environnementale
Gloucester (Ont.)

R. Scroggins
Centre de technologie environnementale
Gloucester (Ont.)

A. Steenkamer
Centre de technologie environnementale
Gloucester (Ont.)

D. St.-Laurent
Région du Québec
Montréal

G. van Aggelen
Centre des sciences de l'environnement du Pacifique
North Vancouver (C.-B.)

R. Watts
Centre des sciences de l'environnement du Pacifique
North Vancouver (C.-B.)

P. Wells
Région de l'Atlantique
Dartmouth (N.-É.)

W. Windle
Direction de l'évaluation des produits chimiques commerciaux
Hull (Qc)

S. Yee
Centre des sciences de l'environnement du Pacifique
North Vancouver (C.-B.)

Gouvernement fédéral (Commission de contrôle de l'énergie atomique)

P. Thompson
Division de la radioprotection
Ottawa

Provinces

S. Abernethy
Ministère de l'Environnement et de l'Énergie
Etobicoke (Ont.)

C. Bastien
Ministère de l'Environnement et de la Faune
Sainte-Foy (Qc)

D. Bedard
Ministère de l'Environnement et de l'Énergie
Etobicoke (Ont.)

M. Mueller
Ministère de l'Environnement et de l'Énergie
Etobicoke (Ont.)

C. Neville
Ministère de l'Environnement et de l'Énergie
Etobicoke (Ont.)

D. Poirier
Ministère de l'Environnement et de l'Énergie
Etobicoke (Ont.)

G. Westlake
Ministère de l'Environnement et de l'Énergie
Etobicoke (Ont.)

Annexe B

Adresses de l'administration centrale et des bureaux régionaux du Service de la protection de l'environnement d'Environnement Canada

Administration centrale
351, boul. Saint-Joseph
Place Vincent-Massey
Hull
K1A 0H3

Région de l'Atlantique
15e étage, Queen Square
45 Alderney Drive
Dartmouth (Nouvelle-Écosse)
B2Y 2N6

Région du Québec
14e étage
105, rue McGill
Montréal
H2Y 2E7

Région de l'Ontario
4905 Dufferin St., 2e étage
Downsview (Ontario)
M3H 5T4

Région de l'Ouest et du Nord
Pièce 210, Twin Atria n° 2
4999, 98e Avenue
Edmonton (Alberta)
T6B 2X3

Région du Pacifique et du Yukon
224, rue Esplanade ouest
North Vancouver (Colombie-Britannique)
V7M 3H7

Annexe C

Membres du Groupe consultatif scientifique

Membres

Dr Peter Chapman
EVS Environment Consultants
195 Pemberton Avenue
North Vancouver (C.-B.) V7P 2R4
Téléphone : (604) 986-4331
Télécopieur : (604) 662-8548

Mme Chantal Côté
Beak Consultants Ltée.
Carré Dorval
455, boul. Fénélon, suite 104
Dorval (Qc) H9S 5T8
Téléphone : (514) 631-5544
Télécopieur : (514) 631-5588

M. Ken Doe
Environnement Canada
Laboratoire de toxicologie
Section de la qualité de l'environnement,
Direction des contaminants de l'environnement
Centre des sciences de l'environnement
C. P. 23005
Moncton (N.-B.) E1A 6S8
Téléphone : (506) 851-3486
Télécopieur : (506) 851-6608

Mme Michelle Fennell
Environnement Canada
Centre des sciences de l'environnement du Pacifique
2645 Dollarton Highway
North Vancouver (C.-B.) V7H 1V2
Téléphone : (604) 924-2516
Télécopieur : (604) 924-2554

Mme Carol Harris
Harris Industrial Testing Services Ltd.
C. P. 92, Milford Station
Hants County (N.-É.) BON 1YO
Téléphone : (902) 758-2638
Télécopieur : (902) 758-3064

Mme Emilia Jonczyk
Beak Consultants Limited
Section de la toxicologie
14 Abacus Road
Brampton (Ont.) L6T 5B7
Téléphone : (905) 794-2325
Télécopieur : (905) 794-2338

Mme Deanna Lee
Ministère de l'Environnement, des Terres et des Parcs
de la Colombie-Britannique
Lower Mainland Region
10470 - 152nd Street
Surrey (C.-B.) V3R 0R3
Téléphone : (604) 582-5266
Télécopieur : (604) 582-5335

Mme Cathy. McPherson
EVS Environment Consultants
195 Pemberton Avenue
North Vancouver (C.-B.) V7P 2R4
Téléphone : (604) 986-4331
Télécopieur : (604) 662-8548

Mme Mary Murdoch
Jacques Whitford Environment Ltd.
607 Torbay Road
St. John's (T.-N.) A1A 4Y6
Téléphone : (709) 576-1458
Télécopieur : (709) 576-2126

Mme Linda Porebski
Environnement Canada
Division du milieu marin
12e étage
Place Vincent-Massey
351, boul. Saint-Joseph
Hull (Qc) K1A 0H3
Téléphone : (819) 953-4341
Télécopieur : (819) 953-0913

M. Phil Riebel
P. Riebel and Associates
30, rue Birch Hill
Baie-d'Urfé (Qc) H9X 3H7
Téléphone : (514) 457-9452
Télécopieur : (514) 457-3302

Mme Jennifer Stewart
EVS Environment Consultants
195 Pemberton Avenue
North Vancouver (C.-B.) V7P 2R4
Téléphone : (604) 986-4331
Télécopieur : (604) 662-8548

Liste des membres (suite)

Mme Dixie Sullivan
Environnement Canada
Région du Pacifique et du Yukon, SPE
224 West Esplanade Street
North Vancouver (C.-B.) V7M 3H7
Téléphone : (604) 666-2730
Télécopieur : (604) 666-7294

Dr Kok-Leng Tay
Environnement Canada
Division de l'immersion en mer, SPE
5e étage, Queen Square
45 Alderney Drive
Dartmouth (N.-É.) B2Y 2N6
Téléphone : (902) 426-8304
Télécopieur : (902) 426-3897

M. Graham van Aggelen
Environnement Canada
Centre des sciences de l'environnement du Pacifique
2645 Dollarton Highway
North Vancouver (C.-B.) V7H 1V2
Téléphone : (604) 924-2513
Télécopieur : (604) 924-2554

Autorités scientifiques

M. Rick Scroggins
Environnement Canada
Section de l'élaboration et de l'application des méthodes
Centre de technologie environnementale
3439 River Road South
Gloucester (Ont.) K1A 0H3
Téléphone : (613) 990-8569
Télécopieur : (613) 990-0173

M. Jim Osborne
Environnement Canada
Division du milieu marin
12e étage
Place Vincent-Massey
351, boul. Saint-Joseph
Hull (Qc) K1A 0H3
Téléphone : (819) 953-2265
Télécopieur : (819) 953-0913

Consultant

Dr Don McLeay
McLeay Environmental Ltd.
2999 Spring Bay Road
Victoria (C.-B.) V8N 5S4
Téléphone : (250) 472-2608
Télécopieur : (250) 472-2609

Annexe D

Rhepoxynius abronius — Limites connues de tolérance et d'utilisation

Limites de tolérance à l'égard du toxique de référence

Depuis 1988, les laboratoires régionaux de l'Atlantique et du Pacifique d'Environnement Canada ont entrepris des essais toxicologiques de référence dans l'eau seulement pour déterminer la CL 50 après 96 h pour chaque groupe de *Rhepoxynius abronius* capturés sur le terrain et utilisés dans des essais toxicologiques des sédiments d'une durée de 10 jours. Les résultats de ces essais de référence (n = 15), effectués conformément à Environnement Canada (1992) et à la section 5 de la présente méthode, ont été reportés sur une carte de contrôle sur laquelle on a défini une zone de confiance (moyenne géométrique ± 2 σ ; Doe, 1997 ; Fennell, 1997). Ces valeurs (tableau D.1) devraient aider les laboratoires inexpérimentés à sélectionner la gamme convenable de concentrations d'essai pour entreprendre les essais toxicologiques de référence avec cette espèce ; elles sont également utiles aux comparaisons. D'autres auteurs (p. ex. DeWitt *et al.*, 1989) ont signalé des valeurs semblables de la tolérance de *R. abronius* au cadmium (CL 50 après 96 h déterminées dans l'eau seulement).

Limites de tolérance et d'emploi pour la salinité

R. abronius tolère très peu la faible salinité. Swartz *et al.* (1985) signalent que la survie de cette espèce au bout de 10 jours a été considérablement réduite lorsque la salinité de l'eau de porosité était de 18,8 ‰ et qu'aucun amphipode n'a survécu à 9,9 ‰ et à 12,3 ‰ de salinité. Dans une série distincte d'études, Swartz *et al.* (1985) ont déterminé que le taux moyen de survie de *R. abronius* à la salinité de l'eau interstitielle de 15 ‰ était considérablement moindre qu'à 25 ‰. Ces auteurs concluent que, *dans un souci de prudence, il faudrait que la salinité de l'eau interstitielle du sédiment d'essai soit d'au moins 25 ‰ avant de faire abstraction des effets de la salinité sur la survie*. Ils concluent également *que la sensibilité de* R. abronius *à la salinité limite effectivement l'application de ce mode opératoire aux échantillons de sédiment prélevés dans la zone côtière et dans les parties les plus salées des estuaires. Les tentatives visant à augmenter la salinité de l'eau interstitielle par l'adjonction d'eau plus salée ou par le tamisage de l'échantillon dans une eau plus salée sont susceptibles de modifier des propriétés toxicologiques de l'échantillon.*

Lee et Fennell (1995) ont réexaminé la tolérance de *R. abronius* à la salinité. Ils ont effectué des essais de survie de 10 jours en utilisant le sable « super fin » (≤ 0,5 mm) Target^{MD} et de l'eau de mer, en réglant la salinité dans le milieu surnageant aux valeurs de 15, 20, 25, 30, 35, 40 et 45 ‰. La survie moyenne a été de 70 à 83 % aux salinités variant de 25 à 35 ‰ ; l'écart entre ces valeurs n'était pas significatif. À la salinité de 15 ‰, la survie était nulle et à 20 ‰ elle n'était que de 31 %. Les taux moyens de survie à 40 et à 45 ‰ étaient respectivement de 32 et de 39 %.

Tableau D.1. — Limites connues de tolérance et d'emploi de *Rhepoxynius abronius* dans les essais de mesure de la toxicité d'un sédiment d'une durée de dix jours

Paramètre	Limites connues de tolérance	Limites d'emploi
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, du toxique de référence (mg de Cd/L)	0,6 (0,2 à 1,9)[a] 0,6 (0,4 à 1,1)[b]	
Salinité de l'eau de porosité (‰)	25 à 35 ‰	doit être de 25 à 30 ‰
Sédiment très grossier (%)[c]		0 à 100 ‰ est acceptable
Sédiment fin (%)[d]		doit être < 90 ‰
Argiles (%)[e]		doit être < 40 ‰
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, de l'ammoniaque totale (mg de N/L)	65,0 (40,4 à 89,5)[f]	
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, de l'ammoniac non ionisé (mg de N/L)	1,1 (0,7 à 1,4)[f]	
CL 50 après 10 j, dans l'eau de porosité, de l'ammoniaque totale (mg de N/L)	57,7 (51,9 à 63,6)[f]	
CL 50 après 10 j, dans l'eau de porosité, de l'ammoniac non ionisé (mg de N/L)	1,4 (1,3 à 1,5)[f]	
Sulfure d'hydrogène de l'eau de porosité (mg/L)	inconnues	

a. Moyenne géométrique (± 2 σ) de 15 essais effectués au Laboratoire de la région de l'Atlantique d'Environnement Canada.
b. Moyenne géométrique (± 2 σ) de 15 essais effectués au Laboratoire de la région du Pacifique d'Environnement Canada.
c. Pourcentage de particules de plus de 1,0 mm dans la matière d'essai.
d. Pourcentage de particules de moins de 0,063 mm dans la matière d'essai (c'est-à-dire le pourcentage de limons et d'argiles).
e. Pourcentage de particules de moins de 0,004 mm dans la matière d'essai.
f. Entre parenthèses, les limites de confiance à 95 % de la CL 50 ; d'après les concentrations dosées (azote ammoniacal total) et calculées à partir des concentrations dosées (azote ammoniacal non ionisé ; Bower et Bidwell, 1978). D'après Tay *et al.* (1998).

L'USEPA (1994a) affirme que l'intervalle de tolérance à la salinité de 25 à 32 ‰ est indiqué pour cette espèce. Pour les essais d'une durée de 10 j, l'USEPA (1994a) a précisé une « limite d'emploi » de plus de 25 ‰ dans l'eau surnageante.

D'après les constatations de Swartz *et al.* (1985) et de Lee et Fennell (1995), il est évident que *R. abronius* tolère les salinités de 25 à 35 ‰. C'est cette fourchette de salinité de l'eau de porosité que l'on fixe comme limite d'emploi de l'espèce (v. tableau D.1 et § 2.6). Quand on utilise cette espèce dans un essai de mesure de la toxicité du sédiment d'une durée de 10 jours, il ne faut pas utiliser une matière d'essai dans laquelle la salinité de l'eau de porosité est inférieure à 25 ‰. On devrait plutôt, dans ce cas, évaluer la matière à l'aide d'une autre espèce convenable, tolérant les faibles salinités (p. ex. *Eohaustorius estuarius ;* v. annexe F).

Limites de tolérance aux fortes teneurs en matières organiques

R. abronius tolère un enrichissement considérable du sédiment en matières organiques. Les essais d'une durée de 10 jours effectués par Swartz *et al.* (1985) ont montré que le taux de survie moyen dans des échantillons de sédiment non contaminé prélevé sur le terrain, dont la teneur en matières volatiles totales pouvait atteindre 18 %, peut équivaloir au taux de survie des groupes témoins. Paine et McPherson (1991a) signalent des taux de survie au bout de 10 jours de 89 à 92 %, chez les sujets gardés dans un échantillon de sédiment prélevé sur le terrain, dont la teneur en carbone organique total était de 10 %, et des taux de survie semblables dans un sédiment non contaminé dont la teneur en matières organiques totales était de 4 %. Des essais d'une durée de 10 jours portant sur des sédiments prélevés dans 12 fjords de la côte ouest de la partie continentale de la Colombie-Britannique ont montré que les taux de survie dans l'échantillon (qui variaient de 35 à 88 %) et la teneur en carbone organique total (qui variait de 0,4 à 4,8 %) étaient faiblement corrélées (R = 0,10) [Sullivan *et al.*, 1998a].

On ne dispose pas d'études dans des sédiments reconstitués, qui montrent l'effet de fortes concentrations de carbone organique sur le taux de survie de l'espèce au bout de 10 jours. Les études effectuées avec des préparations de sable de silice du commerce (Tay *et al.*, 1998) montrent que *R. abronius* réussit à bien survivre pendant 10 jours dans un milieu dépourvu d'une quantité appréciable de carbone organique.

On en conclut que l'espèce peut tolérer des échantillons de matières d'essai renfermant 18 % ou moins de carbone organique total. Cependant, on ne connaît pas la limite supérieure qui pourrait être tolérable sans diminuer la survie au bout de 10 jours. Aucune limite d'emploi relative au carbone organique total ne semble nécessaire ou appropriée.

Limites de tolérance et d'emploi pour la granulométrie

De nombreuses études ont porté sur l'influence de la granulométrie sur les taux de survie au bout de 10 jours de *R. abronius*, dans des essais toxicologiques des sédiments. Elles se sont surtont intéressées à l'influence de la fraction fine des sédiments (c'est-à-dire d'une taille de moins de 0,063 mm), même si elles ont aussi examiné la tolérance de l'espèce à l'égard des sédiments grossiers (Lee, 1994 ; Tay *et al.*, 1998).

Des études ont montré les taux élevés de survie au bout de 10 jours de *R. abronius* exposé à des sédiments de référence prélevés sur le terrain et riches en particules fines et en argiles. Par exemple, Swartz *et al.* (1985) signalent un taux moyen de survie de 90 % dans un échantillon de sédiment constitué de 10 % de sables, de 37 % de limons et de 53 % d'argiles (fraction fine de 90 %). De même, Long *et al.* (1990) constatent un taux moyen de survie de 91 % dans un échantillon de sédiment prélevé sur le terrain renfermant 48,3 % de limons et 48,4 % d'argiles (c'est-à-dire fraction fine de 96,7 %) ; McLeay *et al.* (1991) observent des taux de survie de 81 et de 91 % chez des amphipodes gardés dans un échantillon de sédiment de référence constitué à 99 % de matières fines. Réciproquement, McLeay *et al.* (1991) constatent un taux réduit de survie dans un autre échantillon de sédiment de référence, prélevé dans un autre endroit et constitué à 99 % de particules fines. Sullivan *et al.* (1998b) signalent un taux élevé (92 %) de survie au bout de 10 jours chez *R. abronius* gardé dans un échantillon de sédiment prélevé sur le terrain, renfermant 35 % d'argiles et 84 % de particules fines. Pinza *et al.* (1997) observent un taux moyen de survie au bout de 10 jours de 90 % chez *R. abronius* gardé dans un échantillon de sédiment prélevé sur le terrain constitué de 36 % d'argiles et de 90 % de particules fines.

Un certain nombre d'études ont montré une réduction des taux de survie au bout de 10 jours lorsque l'espèce est gardée dans un échantillon de référence prélevé sur le terrain constitué de particules fines (surtout de limons et d'argiles) ou dans des préparations d'argiles ou de mélanges de sables de silice et d'argiles du commerce riches en particules fines. Dans une série d'essais employant diverses préparations de sables ou d'argiles possédant des caractéristiques granulométriques tranchées. Lee (1994) a constaté que le taux de survie de *R. abronius* était corrélé de façon fortement négative (R = – 0,82) au pourcentage d'argiles. Tay *et al.* (1998) ont montré que, chez cette espèce, les taux moyens de survie au bout de 10 jours sont passés de 98 % (chez les témoins) à au plus 71 %, lorsque les mélanges de sables et d'argiles renfermaient au moins 22 % d'argiles. De même, Tay *et al.* (1998) ont constaté qu'un échantillon de sédiment de référence renfermant 17 % d'argiles et 82 % de particules fines abaissait la survie à 75 %. Dans des essais d'une durée de 10 jours ayant employé 12 échantillons de sédiments de la côte Ouest prélevés dans des localités éloignées des zones d'influence anthropiques et apparemment préservées de ces dernières, Sullivan *et al.* (1998a) ont observé que les taux moyen de survie étaient inférieurs à 60 % dans quatre des sept échantillons renfermant au moins 90 % de particules fines ; en outre, les taux moyens de survie étaient inférieurs à 60 % dans cinq des huit échantillons renfermant au moins 40 % d'argiles.

On constate, dans deux séries d'études ayant porté sur divers mélanges de sables et d'argiles une réduction (faible) de la tolérance de l'espèce au sable très grossier. Lee (1994) a observé une légère réduction de la survie moyenne au bout de 10 jours, qui est passée de 90 % (témoins) à 84 % chez les groupes gardés dans une préparation du commerce (« sable de silice n° 2 ») constituée d'environ 92 % de sédiment très grossier (> 1,0 mm). Tay *et al.* (1998) signalent des constatations semblables pour ce mélange, en chiffrant le taux moyen de survie à 77 %.

Vu les signes d'une intolérance de *R. abronius* à un pourcentage élevé de particules fines, l'USEPA (1994a) a fixé à moins de 90 % de particules fines la limite d'emploi de l'espèce. Cette

limite, qui semble raisonnable, est adoptée dans le présent document (v. tableau D.1 et § 2.6). De plus, une deuxième limite d'emploi de moins de 40 % d'argiles semble raisonnable et doit être appliquée dans le cadre de la méthode de référence. En conséquence, on ne doit pas utiliser *R. abronius* pour les essais toxicologiques d'un sédiment d'une durée de 10 jours conformément à la présente méthode de référence, si les matières d'essai renferment au moins 90 % de matières fines et/ou au moins 40 % d'argiles. Il faut plutôt utiliser une espèce plus tolérante à l'égard des sédiments fins (p. ex. *Eohaustorius estuarius* ; v. annexe F), à la condition de ne pas excéder les limites d'emploi de cette espèce. Pour *R. abronius*, aucune limite d'emploi n'est nécessaire ou appropriée concernant les matières grossières (c'est-à-dire de plus de 1,0 mm) [§ 2.6].

Limites de tolérance à l'ammoniaque

Sims et Moore (1995a) ont entrepris une étude bibliographique des concentrations d'ammoniaque dans l'eau de porosité des sédiments de même que de la toxicité connue de l'ammoniaque pour les invertébrés et poissons marins et dulcicoles. Ils ont conclu que *la comparaison des concentrations signalées d'exposition et des concentrations efficaces porte à croire à un potentiel important de toxicité ammoniacale dans les dosages biologiques employant des déblais de dragage*.

Tay *et al.* (1998) ont mesuré la tolérance de *R. abronius* à l'ammoniaque dans un essai d'une durée de 96 h dans l'eau seulement et dans un essai d'une durée de 10 jours employant un sédiment enrichi. Dans chaque cas, on a calculé les CL 50, que l'on a exprimées en fonction des teneurs mesurées en ammoniaque totale et des teneurs calculées en ammoniac non ionisé (Bower et Bidwell, 1978). Les valeurs obtenues grâce à ces essais sont présentées dans le tableau D.1. Les résultats montrent que les valeurs respectives (c'est-à-dire en ammoniaque totale ou en ammoniac non ionisé) sont semblables dans les essais dans l'eau seulement et les essais sur de l'eau de porosité et un sédiment enrichi.

Tay *et al.* (1998) ont constaté que la CL 50 de l'ammoniaque totale dans l'eau seulement était de 65,0 mg de N/L au bout de 96 h. Cette valeur est identique à la CL 50 de l'ammoniaque totale dans l'eau seulement au bout de 96 h signalée par Kohn *et al.* (1994) [65 mg] et semblable à la CL 50 moyenne au bout de 96 h ($n = 6$) de l'ammoniaque totale signalée par Pinza *et al.* (1997) [58 mg]. La CL 50 de l'ammoniac non ionisé, de 1,1 mg N/L au bout de 96 h, calculée par Tay *et al.* (1998), est semblable à celle de 1,3 mg signalée par Kohn *et al.* (1994). Si l'on excepte les chiffres de Tay *et al.* (1998) [v. tableau D.1], on n'a trouvé dans les publications aucune autre CL 50 de NH_3 (total ou non ionisé) au bout de 10 jours pour cette espèce.

L'USEPA (1994a) précise les limites d'emploi de *R. abronius* à l'égard de l'ammoniaque totale et de l'ammoniac non ionisé des sédiments. Ces valeurs, dites sans effet dans la colonne d'eau, sont respectivement de < 30 mg NH_3/L (< 24,7 mg N/L) et de < 0,4 mg NH_3/L (< 0,3 mg N/L) [pH de 7,7].

Pour ce qui concerne l'ammoniaque totale ou l'ammoniac non ionisé dans les matières d'essai, on n'impose aucune limite d'emploi (v. tableau D.1), vu que les concentrations d'ammoniaque dans les échantillons pourraient être élevées du fait de causes anthropiques et/ou naturelles et

pourraient être un constituant toxique faisant partie intégrante des paramètres à examiner à l'aide de cette espèce et de cette méthode.

Limites de tolérance au sulfure d'hydrogène

Dans l'eau de porosité des sédiments, le sulfure d'hydrogène peut être présent à des concentrations toxiques pour les amphipodes et d'autres formes de vie benthiques (Sims et Moore, 1995b). D'après une étude bibliographique des concentrations mesurées de sulfure d'hydrogène dans l'eau de porosité et de sa toxicité connue pour les organismes marins ou dulcicoles, ces auteurs concluent que *la comparaison des concentrations signalées d'exposition et des concentrations efficaces porte à croire en la forte possibilité d'une toxicité attribuable au sulfure d'hydrogène dans les dosages biologiques portant sur les déblais de dragage*. Jusqu'à ce jour, cependant, on n'a obtenu aucune donnée définitive montrant les limites de sulfure d'hydrogène que *R. abronius* peut tolérer dans l'eau de porosité ou dans l'eau surnageante (c'est-à-dire les CL 50 mesurées dans l'eau seulement).

Historique des performances des témoins

Pendant plus d'une décennie, beaucoup de laboratoires nord-américains ont entrepris, avec cette espèce, de nombreux essais toxicologiques d'une durée de 10 jours, qui ont porté sur des sédiments et des essais toxicologiques de référence, dans l'*eau seulement*, d'une durée de 96 h. Dans la plupart des cas, les taux moyens de survie au bout de 10 jours dans les sédiments témoins ont usuellement été d'au moins 90 %. En outre, les taux de survie après 96 h d'exposition à l'*eau seulement* dans des essais toxicologiques de référence ont habituellement été d'au moins 90 %. C'est pourquoi on considère qu'un taux moyen minimal de survie après 10 jours d'au moins 90 % dans le sédiment témoin et des taux de survie après 96 h d'au moins 90 % dans l'eau témoin ou l'eau de dilution utilisée dans les essais toxicologiques de référence constituent des limites de base facilement accessibles et convenables pour les critères de validité des essais toxicologiques de référence et des essais toxicologiques des sédiments employant *R. abronius* (v. § 4.6 et section 5).

Annexe E

Eohaustorius washingtonianus — Limites connues de tolérance et d'emploi

Limites de tolérance à l'égard du toxique de référence

Le Laboratoire régional du Pacifique d'Environnement Canada a entrepris des essais toxicologiques de référence dans l'eau seulement pour déterminer la CL 50 après 96 h pour chaque groupe d'*Eohaustorius washingtonianus* capturés sur le terrain et utilisés dans des essais toxicologiques des sédiments d'une durée de 10 jours. Il a reporté les résultats de 29 essais, effectués de novembre 1994 à avril 1997 sur une carte de contrôle en y délimitant une zone de confiance (moyenne géométrique ± 2 σ ; Fennell, 1997) conformément à la méthode exposée dans Environnement Canada (1992) et la section 5 du présent document. Ces valeurs (tableau E.1) devraient aider les laboratoires inexpérimentés à sélectionner la gamme convenable de concentrations d'essai pour entreprendre les essais toxicologiques de référence avec cette espèce ; elles ont également utiles aux comparaisons. D'autres auteurs (Paine et McPherson, 1991b) ont signalé des valeurs semblables de la tolérance d'*E. washingtonianus* au cadmium (CL 50 après 96 h déterminées dans l'eau seulement dans d'autres laboratoires).

Limites de tolérance et d'emploi pour la salinité

Lee et Fennell (1995) signalent les résultats d'une série d'essais de mesure du taux de survie au bout de 10 jours qui ont été entrepris pour déterminer la tolérance d'*E. washingtonianus* à une gamme de salinités de l'eau de porosité. Pour chaque essai, on a utilisé du sable « super fin » sec Target[MD] (≤ 0,5 mm) et de l'eau de mer dont la salinité, dans le milieu surnageant, a été réglée à 15, 20, 25, 30, 35, 40 et 45 ‰. Les taux moyens de survie après 10 jours n'étaient pas significativement différents dans toute la gamme des concentrations de 15 à 35 ‰ ; dans cette fourchette, ils étaient de 83 à 94 %, et aucune tendance liée à la salinité ne pouvait être dégagée. Aux salinités de 40 et de 45 ‰, ils étaient significativement inférieurs (c'est-à-dire de 60 et de 43 %, respectivement). Aucune autre étude n'est disponible sur la tolérance de l'espèce à la salinité.

D'après les conclusions et Lee et Fennell (1995), il est évident qu'*E. washingtonianus* tolère des salinités de 15 à 35 ‰. Relativement à la salinité de l'eau de porosité, on a donc fixé la limite d'emploi de l'espèce à 15 à 35 ‰ (v. tableau E.1 et § 2.6). La toxicité des matières d'essai dont la salinité de l'eau de porosité est inférieure à 15 ‰ doit être évaluée au moyen d'une autre espèce, qui tolère mieux l'eau de faible salinité (p. ex. *Eohaustorius estuarius* ; v. annexe F).

Limites de tolérance aux fortes teneurs en matières organiques

On ne dispose d'aucune étude employant des sédiments reconstitués qui montrent l'effet d'une forte teneur en carbone organique sur le taux de survie de l'espèce au bout de 10 jours. Les résultats des essais avec des sédiments de référence non contaminés ne sont également pas parlants à cet égard, vu qu'on ne dispose d'aucun rapport sur le taux de survie, au bout de

Tableau E.1. — Limites connues de tolérance et d'emploi d'*Eohaustorius washingtonianus* dans les essais de mesure de la toxicité d'un sédiment d'une durée de dix jours

Paramètre	Limites connues de tolérance	Limites d'emploi
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, du toxique de référence (mg de Cd/L)	0,5 (0,4 à 0,8)[a]	
Salinité de l'eau de porosité (‰)	15 à 35 ‰	doit être de 15 à 35 ‰
Sédiment très grossier (%)[b]		doit être < 25 ‰
Sédiment fin (%)[c]		doit être < 80 ‰
Argiles (%)[d]		doit être < 20 ‰
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, de l'ammoniaque totale (mg de N/L)	139 (111 à 167)[e]	
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, de l'ammoniac non ionisé (mg de N/L)	1,9 (1,7 à 2,2)[e]	
CL 50 après 10 j, dans l'eau de porosité, de l'ammoniaque totale (mg de N/L)	112 (86,3 à 138)[e]	
CL 50 après 10 j, dans l'eau de porosité, de l'ammoniac non ionisé (mg de N/L)	1,6 (1,3 à 1,8)[e]	
Sulfure d'hydrogène de l'eau de porosité (mg/L)	inconnues	

a. Moyenne géométrique (± 2 σ) de 29 essais effectués au Laboratoire de la région du Pacifique d'Environnement Canada.
b. Pourcentage de particules de plus de 1,0 mm dans la matière d'essai.
c. Pourcentage de particules de moins de 0,063 mm dans la matière d'essai (c'est-à-dire le pourcentage de limons et d'argiles).
d. Pourcentage de particules de moins de 0,004 mm dans la matière d'essai.
e. Entre parenthèses, les limites de confiance à 95 % de la CL 50 ; d'après les concentrations dosées (azote ammoniacal total) et calculées à partir des concentrations dosées (azote ammoniacal non ionisé ; Bower et Bidwell, 1978). D'après Tay *et al.* (1998).

10 jours, d'*E. washingtonianus* exposé à des échantillons renfermant plus de 5 % de carbone organique. Les études avec des préparations du commerce de sable de silice (Tay *et al.*, 1998) montrent qu'*E. washingtonianus* peut bien survivre pendant 10 jours en l'absence de toute teneur appréciable en carbone organique.

Les résultats d'essais d'une durée de 10 jours employant des sédiments de référence non contaminés de 12 fjords de la côte ouest de la partie continentale de la Colombie-Britannique a montré la faible corrélation (R = 0,23) entre les taux de survie (dont la moyenne variait de 10 à 95 %) et la teneur en carbone organique total (qui variait de 0,4 à 4,8 %) [Sullivan *et al.*, 1998a]. Sullivan *et al.* (1998a) ont observé un taux moyen de survie au bout de 10 jours élevé, de 80 %, dans un échantillon dont la teneur en carbone organique était de 4,8 %. De même, Lee *et al.* (1995) ont observé chez *E. washingtonianus* des taux de survie pouvant atteindre 80 % dans un sédiment prélevé sur le terrain dont la teneur en carbone organique était de 4,5 %.

E. washingtonianus semble tolérer 5 % ou moins de carbone organique totale dans les échantillons de matière d'essai, mais on ne connaît pas la limite supérieure qui peut être tolérée sans diminuer la survie au bout de 10 jours. Aucune limite d'emploi relative au carbone organique total ne semble nécessaire ou appropriée.

Limites de tolérance et d'emploi pour la granulométrie

Deux études, par des chercheurs d'Environnement Canada (Lee, 1994 ; Tay *et al.*, 1998), ont porté sur l'influence de la granulométrie du sédiment sur la survie au bout de 10 jours d'*E. washingtonianus*. Dans chacune de ces études, on a utilisé divers mélanges ou préparations du commerce de sable de silice et d'argile. Les constatations de Lee (1994) ont montré que le taux moyen de survie est passé à 9 ou à 55 % lorsque l'espèce a été exposée à des préparations de sable de silice d'environ 92 ou 27 %, respectivement, de sédiment très grossier (c'est-à-dire > 1,0 mm). Tay *et al.* (1998) ont également montré que l'espèce ne tolérait pas un fort pourcentage de sédiment très grossier, vu que sa survie au bout de 10 jours a été réduite, par rapport aux 98 % observés chez les témoins, à 60 % lorsque les amphipodes ont été gardés dans du « sable de silice n° 2 », constitué d'environ 92 % de sédiment très grossier (c'est-à-dire > 1,0 mm). D'après ces constatations, on peut appliquer, dans le cadre de la présente méthode de référence une limite d'emploi à *E. washingtonianus* de moins de 25 % de sédiment très grossier (v. tableau E.1 et § 2.6). On ne doit donc pas utiliser de matière d'essai renfermant au moins 25 % de sédiment très grossier (c'est-à-dire > 1,0 mm) pour un essai toxicologique des sédiments d'une durée de 10 jours avec *E. washingtonianus*, selon la présente méthode de référence. On devrait plutôt utiliser une autre espèce plus tolérante à un fort pourcentage de sédiment très grossier (p. ex. *R. abronius*, *E. estuarius* ou *A. virginiana* ; v. annexes D, F et G).

Chaque étude de Lee (1994) et de Tay *et al.* (1998) sur des préparations du commerce de sables, d'argiles ou de mélanges de sables et d'argiles démontre qu'*E. washingtonianus* est très intolérant à un fort pourcentage de matières fines (< 0,063 mm). Lee (1994) a constaté un taux moyen de survie au bout de 10 jours d'à peine 14 % lorsque l'espèce a été exposée à une préparation renfermant 95 % de matières fines et 59 % d'argiles ; la survie a été nulle dans une préparation

renfermant 99 % de matières fines et 84 % d'argiles. Tay *et al.* ont constaté que les taux moyens de survie au bout de 10 jours dans les mélanges de sables et d'argiles diminuaient progressivement en raison inverse de l'augmentation de la teneur en argiles, de 43 % à 22 % d'argiles (31 % de matières fines) à 17 % à peine à 64 % d'argiles (99 % de matières fines).

Un certain nombre d'études réalisé avec des sédiments de référence non contaminés, prélevés sur le terrain confirment les constatations selon lesquelles cette espèce, dans des mélanges de sable et d'argile du commerce, tolère mal un pourcentage élevé de matières fines. À la faveur d'essais d'une durée de 10 jours employant 12 échantillons de sédiments de la côte ouest prélevés en des endroits éloignés des zones d'activité humaine et apparemment à l'abri de leur influence, Sullivan *et al.* (1998a) ont observé que les taux moyens de survie étaient d'au plus 60 % dans des 8 échantillons renfermant au moins 80 % de matières fines ; de plus, les taux moyens de survie étaient d'au plus 60 % dans 8 des 10 échantillons renfermant au moins 30 % d'argiles. Pour ces sédiments on a calculé une corrélation négative assez forte (R = – 0,76) entre le taux d'argiles et le taux moyen de survie. Lee *et al.* (1995) ont comparé les taux moyens de survie d'*E. washingtonianus* dans 34 échantillons de sédiments prélevés sur le terrain, de référence ou contaminés, et ils ont constaté que tous les échantillons renfermant au moins 20 % d'argiles (20 sur 34) correspondaient à un taux de survie d'au plus 80 %. De même, ces données ont montré que tous les échantillons qui renfermaient au moins 55 % de matières fines (c'est-à-dire d'une taille de moins de 0,063 mm) correspondaient à un taux de survie d'au plus 80 %. Pour cet ensemble de données (Lee *et al.*, 1995), la corrélation entre les taux de survie et la teneur en argiles était négative (R = – 0,85).

Vu l'intolérance apparente d'*E. washingtonianus* à un pourcentage élevé de matières fines, on fixe la limite d'emploi de l'espèce à moins de 80 % de matières fines (v. tableau E.1 et § 2.6). En outre, une deuxième limite d'emploi de moins de 20 % d'argiles semble raisonnable et doit être intégrée à la méthode de référence. Il ne faut donc pas utiliser *E. washingtonianus* avec de matières d'essai renfermant au moins 80 % de matières fines et/ou au moins 20 % d'argiles pour les essais toxicologiques de sédiments d'une durée de 10 jours, selon la présente méthode de référence. Il faut plutôt utiliser une autre espèce, plus tolérante à l'égard des sédiments fins (p. ex. *Eohaustorius estuarius* ; v. § 2.6), à la condition que la granulométrie du milieu respecte les limites d'emploi de cette espèce.

Limites de tolérance à l'ammoniaque

Sims et Moore (1995a) ont entrepris une étude bibliographique des concentrations d'ammoniaque dans l'eau de porosité des sédiments de même que de la toxicité connue de l'ammoniaque pour les invertébrés et poissons marins et dulcicoles. Ils ont conclu que *la comparaison des concentrations signalées d'exposition et des concentrations efficaces porte à croire à un potentiel important de toxicité ammoniacale dans les dosages biologiques employant des déblais de dragage*.

Tay *et al.* (1998) ont mesuré la tolérance d'*E. washingtonianus* à l'ammoniaque dans un essai d'une durée de 96 h dans l'eau seulement et dans un essai d'une durée de 10 jours employant un sédiment enrichi. Dans chaque cas, on a calculé les CL 50, que l'on a exprimées en fonction des

teneurs mesurées en ammoniaque totale et des teneurs calculées en ammoniac non ionisé (Bower et Bidwell, 1978). Les valeurs obtenues grâce à ces essais sont présentées dans le tableau E.1. Les résultats montrent que les valeurs respectives (c'est-à-dire en ammoniaque totale ou en ammoniac non ionisé) sont semblables dans les essais dans l'eau seulement et les essais sur de l'eau de porosité et un sédiment enrichi. Aucune autre étude n'existe sur la tolérance de cette espèce à la toxicité létale aiguë de l'ammoniaque.

Pour ce qui concerne l'ammoniaque totale ou l'ammoniac non ionisé dans les matières d'essai, on n'impose aucune limite d'emploi (v. tableau E.1), vu que les concentrations d'ammoniaque dans les échantillons pourraient être élevées du fait de causes anthropiques et/ou naturelles et pourraient être un constituant toxique faisant partie intégrante des paramètres à examiner à l'aide de cette espèce et de cette méthode.

Limites de tolérance au sulfure d'hydrogène

Dans l'eau de porosité des sédiments, le sulfure d'hydrogène peut être présent à des concentrations toxiques pour les amphipodes et d'autres formes de vie benthiques (Sims et Moore, 1995b). D'après une étude bibliographique des concentrations mesurées de sulfure d'hydrogène dans l'eau de porosité et de sa toxicité connue pour les organismes marins ou dulcicoles, ces auteurs concluent que *la comparaison des concentrations signalées d'exposition et des concentrations efficaces porte à croire en la forte possibilité d'une toxicité attribuable au sulfure d'hydrogène dans les dosages biologiques portant sur les déblais de dragage*. Jusqu'à ce jour, cependant, on n'a obtenu aucune donnée définitive montrant les limites de sulfure d'hydrogène qu'*E. washingtonianus* peut tolérer dans l'eau de porosité ou dans l'eau surnageante (c'est-à-dire les CL 50 mesurées dans l'eau seulement).

Historique des performances des témoins

Depuis la fin 1994, le laboratoire de la région du Pacifique d'Environnement Canada a entrepris 37 séries distinctes d'essais toxicologiques d'une durée de 10 jours, qui ont porté sur des sédiments, et des essais toxicologiques de référence, dans l'*eau seulement*, d'une durée de 96 h. Les taux moyens de survie après 10 jours dans les sédiments témoins ont été en de 94 % en moyenne et ont constamment été d'au moins 85 % dans chaque essai, bien que dans 12,9 % de ces essais, le taux de survie des témoins n'ait pas atteint au moins 90 % (Fennell, 1998). Dans les essais toxicologiques de référence qui leur étaient associés, le taux de survie a été d'au moins 85 %, chez tous les groupes témoins, sauf 5,4 % d'entre eux, tandis qu'il n'a pas atteint au moins 90 % chez 13,5 % d'entre eux. (Fennell, 1998). Vu cet historique des performances des témoins, on considère qu'un taux moyen minimal de survie après 10 jours d'au moins 85 % dans le sédiment témoin et des taux de survie après 96 h d'au moins 85 % dans l'eau témoin ou l'eau de dilution utilisée dans les essais toxicologiques de référence constituent des limites de base facilement accessibles et convenables pour baser des critères de validité des essais toxicologiques de référence et des essais toxicologiques des sédiments employant *E. washingtonianus* (v. § 4.6 et section 5).

Annexe F

Eohaustorius estuarius — Limites connues de tolérance et d'emploi

Limites de tolérance à l'égard du toxique de référence

Le Laboratoire régional de l'Atlantique d'Environnement Canada a entrepris des essais toxicologiques de référence dans l'eau seulement pour déterminer la CL 50 après 96 h pour chaque groupe d'*Eohaustorius estuarius* capturés sur le terrain et utilisés dans des essais toxicologiques des sédiments d'une durée de 10 jours. Il a reporté les résultats de 10 essais, effectués de novembre 1992 à mai 1997, selon la méthode d'Environnement Canada (1992), sur une carte de contrôle en y délimitant une zone de confiance (moyenne géométrique ± 2 σ ; Doe, 1997). Ces valeurs (tableau F.1) devraient aider les laboratoires inexpérimentés à sélectionner la gamme convenable de concentrations d'essai pour entreprendre les essais toxicologiques de référence avec cette espèce ; elles ont également utiles aux comparaisons.

On peut accéder, dans les publications, à d'autres rapports d'observations consécutives à l'application d'essais toxicologiques de référence dans l'eau seulement, dans lesquels on a employé du cadmium et l'organisme *E. estuarius*. DeWitt *et al.* (1989) ont calculé une CL 50 après 96 h de 7,4 mg de Cd/L ; Swartz *et al.* (1994) ont avancé 16,9 mg de Cd/L. Par suite d'une étude interlaboratoires des performances des essais toxicologiques de sédiments d'une durée de 10 jours à l'aide de cette espèce et d'autres espèces d'amphipodes estuariens ou marins, auxquels ont participé huit laboratoires, et qui comprenait un essai toxicologique dans l'eau seulement avec le cadmium, réalisé par chacun des laboratoires, on est arrivé à une CL 50 moyenne après 96 h de 8,4 mg de Cd/L à l'égard d'*E. estuarius*, les valeurs selon les laboratoires variant de 4,8 à 11,2 mg de Cd/L. Ces valeurs sont conformes à celles qu'a déterminées le Laboratoire de la région de l'Atlantique d'Environnement Canada (v. tableau F.1).

Limites de tolérance et d'emploi pour la salinité

E. estuarius est une espèce euryhaline, très tolérante à une large gamme de salinités. DeWitt *et al.* (1989) ont constaté que le taux moyen de survie était constamment de plus de 95 % à tous les taux de salinité éprouvés, dans une série d'essai d'une durée de 10 jours, dans lesquels on a exposé des groupes d'*E. estuarius* à un sédiment témoin dont la salinité de l'eau de porosité avait été réglée à des valeurs variant de 2 à 28 ‰. Dans une étude inédite ultérieure, citée dans USEPA (1994a), on a montré que l'espèce pouvait tolérer jusqu'à 34 ‰ de salinité.

L'USEPA (1994a) déclare qu'une gamme de tolérance de la salinité de 2 à 34 % est indiquée pour cette espèce. À l'égard des essais toxicologiques des sédiments d'une durée de 10 jours, l'USEPA (1994a) a fixé une limite d'emploi de 0 à 34 ‰ de salinité dans l'eau surnageante.

Tableau F.1. — Limites connues de tolérance et d'emploi d'*Eohaustorius estuarius* dans les essais de mesure de la toxicité d'un sédiment d'une durée de dix jours

Paramètre	Limites connues de tolérance	Limites d'emploi
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, du toxique de référence (mg de Cd/L)	5,3 (2,0 à 14,3) [a]	
Salinité de l'eau de porosité (‰)	2 à 34 ‰	doit être de 2 à 35 ‰
Sédiment très grossier (%) [b]		doit être < 90 ‰
Sédiment fin (%) [c]		0 à 100 ‰ est acceptable
Argiles (%) [d]		doit être < 70 ‰
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, de l'ammoniaque totale (mg de N/L)	156 (97,0 à 215) [e]	
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, de l'ammoniac non ionisé (mg de N/L)	2,2 (1,6 à 2,9) [e]	
CL 50 après 10 j, dans l'eau de porosité, de l'ammoniaque totale (mg de N/L)	96,8 (88,1 à 106) [e]	
CL 50 après 10 j, dans l'eau de porosité, de l'ammoniac non ionisé (mg de N/L)	1,3 (1,1 à 1,4) [e]	
Sulfure d'hydrogène de l'eau de porosité (mg/L)	inconnues	

a. Moyenne géométrique (± 2 σ) de 10 essais effectués au Laboratoire de la région de l'Atlantique d'Environnement Canada.
b. Pourcentage de particules de plus de 1,0 mm dans la matière d'essai.
c. Pourcentage de particules de moins de 0,063 mm dans la matière d'essai (c'est-à-dire le pourcentage de limons et d'argiles).
d. Pourcentage de particules de moins de 0,004 mm dans la matière d'essai.
e. Entre parenthèses, les limites de confiance à 95 % de la CL 50 ; d'après les concentrations dosées (azote ammoniacal total) et calculées à partir des concentrations dosées (azote ammoniacal non ionisé ; Bower et Bidwell, 1978). D'après Tay *et al.* (1998).

Compte tenu de la gamme connue de la tolérance de cette espèce à la salinité, on précise à son égard, dans le présent document, relativement à la salinité de l'eau de porosité, une limite d'emploi de 2 à 35 ‰ (v. tableau F.1 et § 2.6).

Limites de tolérance aux fortes teneurs en matières organiques

On ne dispose d'aucune étude avec des sédiments reconstitués pour montrer les effets des fortes teneurs en carbone organique sur le taux de survie de l'espèce au bout de 10 jours. Les études effectuées avec des préparations de sable de silice du commerce (Tay *et al.*, 1998) montrent qu'*E. estuarius* peut bien survivre pendant 10 jours en l'absence de toute teneur appréciable en carbone organique. Une étude avec un échantillon de sédiment prélevé sur le terrain riche en carbone organique (12,4 %) a montré qu'*E. estuarius* pouvait tolérer ce taux élevé (taux moyen de survie au bout de 10 jours de 84 % ; Paine et McPherson, 1991a).

On sait qu'*E. estuarius* peut tolérer 12 % de carbone organique total ou moins dans les échantillons de matière d'essai ; cependant, on ne connaît pas la limite supérieure qui peut être tolérée sans diminuer la survie au bout de 10 jours. Aucune limite d'emploi relative à la teneur en carbone organique total ne semble nécessaire ou appropriée.

Limites de tolérance et d'emploi pour la granulométrie

E. estuarius tolère les sédiments possédant une large gamme de caractéristiques granulométriques. Les essais d'une durée de 10 jours employant une large gamme de préparations du commerce de sable de silice, d'argiles et de mélanges de sables et d'argiles aux tailles granulométriques diverses ont montré que l'espèce pouvait avoir à un taux élevé de survie dans les sédiments grossiers comme dans les sédiments fins (Tay *et al.*, 1998). Par exemple, le taux moyen de survie au bout de 10 jours dans un échantillon de sable de silice à 100 % constitué d'environ 27 % de grains grossiers (c'est-à-dire de plus de 1,0 mm) était de 87 %. Cependant, le taux moyen de survie au bout de 10 jours était quelque peu plus faible (71 %), dans un sédiment constitué à environ 92 % de grains très grossiers (> 1,0 mm). D'après ces constatations, on peut appliquer, dans le cadre de la méthode de référence, une limite d'emploi de moins de 90 % de sédiment très grossier (v. tableau F.1 et § 2.6). Il ne faut donc pas utiliser *E. estuarius* dans des matières d'essai renfermant au moins 90 % de sédiment très grossier (c'est-à-dire > 1,0 mm) pour les essais toxicologiques des sédiments d'une durée de 10 jours selon la présente méthode de référence. Il faut plutôt utiliser d'autres espèces, plus tolérantes à l'égard d'un pourcentage élevé de sédiment très grossier (p. ex. *R. abronius* ou *A. virginiana* ; v. annexes D et G).

Tay *et al.* (1998) ont montré que la tolérance d'*E. estuarius* à l'égard de préparations du commerce de matières fines était élevée, le taux moyen de survie étant d'au moins 82 % dans les mélanges de silice et d'argile renfermant jusqu'à 57 % d'argiles et 79 % de matières fines. Une baisse de la tolérance était cependant évidente dans un mélange de 64 % d'argiles (99 % de matières fines), dans lequel le taux moyen de survie était de 74 % (Tay *et al.*, 1998).

Des essais toxicologiques d'une durée de 10 jours, dans lesquels *E. estuarius* a été exposé à 42 échantillons de sédiment prélevé sur le terrain et non contaminé, ont révélé une légère baisse

du taux de survie en raison de l'augmentation du taux de matières fines ; en dépit de la faible corrélation entre la survie et le taux de matières fines (R = – 0,22) et entre la survie et le taux d'argiles (R = – 0,25) [DeWitt *et al.*, 1989]. Ces essais, qui comportaient un fort pourcentage d'échantillons constitué à plus de 90 % de matières fines, ont révélé un taux moyen global de survie de 94,4 % au bout de 10 jours. D'après ce résultat et ceux d'études semblables, l'USEPA (1994a) a indiqué que l'on pouvait appliquer les essais toxicologiques de sédiment d'une durée de 10 jours employant *E. estuarius* aux sédiments possédant la gamme complète des caractéristiques granulométriques (contrairement à *R. abronius*, pour qui une limite d'emploi de moins de 90 % de matières fines a été fixé).

L'absence de limite d'emploi pour *E. estuarius* (c'est-à-dire 0 à 100 % de matières fines) établie dans USEPA (1994a) semble raisonnable, faut de données affirmant le contraire. Le présent document l'adopte (v. tableau F.1 et § 2.6). On peut donc utiliser des sédiments constitués totalement de matières fines dans les essais toxicologiques d'une durée de 10 jours employant cette espèce. Vu les conclusions de Tay *et al.* (1998), qui mettent en évidence une réduction du taux de survie de l'espèce lorsqu'elle est exposée à des mélanges de sables, de limons et d'argiles du commerce renfermant en moyenne 60 % d'argiles, il faut appliquer, dans le cadre de la présente méthode de référence, une limite d'emploi de moins de 70 % d'argiles. Selon cette méthode de référence, il ne faut donc pas utiliser de matières d'essai renfermant au moins 70 % d'argiles dans un essai toxicologique d'un sédiment d'une durée de 10 jours employant *E. estuarius*.

Limites de tolérance à l'ammoniaque

Sims et Moore (1995a) ont entrepris une étude bibliographique des concentrations d'ammoniaque dans l'eau de porosité des sédiments de même que de la toxicité connue de l'ammoniaque pour les invertébrés et poissons marins et dulcicoles. Ils ont conclu que *la comparaison des concentrations signalées d'exposition et des concentrations efficaces porte à croire à un potentiel important de toxicité ammoniacale dans les dosages biologiques employant des déblais de dragage*.

Tay *et al.* (1998) ont mesuré la tolérance d'*E. estuarius* à l'ammoniaque dans un essai d'une durée de 96 h dans l'eau seulement et dans un essai d'une durée de 10 jours employant un sédiment enrichi. Dans chaque cas, on a calculé les CL 50, que l'on a exprimées en fonction des teneurs mesurées en ammoniaque totale et des teneurs calculées en ammoniac non ionisé (Bower et Bidwell, 1978). Les valeurs obtenues grâce à ces essais sont présentées dans le tableau F.1. Les résultats montrent que les valeurs respectives (c'est-à-dire en ammoniaque totale ou en ammoniac non ionisé) sont semblables dans les essais dans l'eau seulement et les essais sur de l'eau de porosité et un sédiment enrichi.

Tay *et al.* (1998) signalent pour l'ammoniaque totale dans l'eau seulement, une CL 50 au bout de 96 h de 156 mg N/L. Cette valeur ne diffère pas notablement de la CL 50, dans l'eau seulement, au bout de 96 h, qui est de 104 mg de N/L, selon Kohn *et al.* (1994), ni de celle (144 mg de N/L) que signalent Bailey *et al.* (1997). La CL 50 après 96 h, de 2,2 mg de N/L d'ammoniac non ionisé, calculée par Tay *et al.* (1998), pour *E. estuarius*, est très semblable à celle (2,1 mg de N/L)

qu'ont calculée Kohn *et al.* (1994), et quelque peu supérieure à celle (0,8 mg de N/L) qu'ont déterminée Bailey *et al.* (1997).

L'USEPA (1994a) précise les limites d'emploi d'*E. estuarius* à l'égard de l'ammoniaque totale et de l'ammoniac non ionisé des sédiments. Ces valeurs, dites sans effet dans la colonne d'eau, sont respectivement de < 60 mg NH_3/L (< 49,4 mg N/L) et de < 0,8 mg NH_3/L (< 0,7 mg N/L).

Pour ce qui concerne l'ammoniaque totale ou l'ammoniac non ionisé dans les matières d'essai, on n'impose aucune limite d'emploi (v. tableau F.1), vu que les concentrations d'ammoniaque dans les échantillons pourraient être élevées du fait de causes anthropiques et/ou naturelles et pourraient être un constituant toxique faisant partie intégrante des paramètres à examiner à l'aide de cette espèce et de cette méthode.

Limites de tolérance au sulfure d'hydrogène

Dans l'eau de porosité des sédiments, le sulfure d'hydrogène peut être présent à des concentrations toxiques pour les amphipodes et d'autres formes de vie benthiques (Sims et Moore, 1995b). D'après une étude bibliographique des concentrations mesurées de sulfure d'hydrogène dans l'eau de porosité et de sa toxicité connue pour les organismes marins ou dulcicoles, ces auteurs concluent que *la comparaison des concentrations signalées d'exposition et des concentrations efficaces porte à croire en la forte possibilité d'une toxicité attribuable au sulfure d'hydrogène dans les dosages biologiques portant sur les déblais de dragage*. Jusqu'à ce jour, cependant, on n'a obtenu aucune donnée définitive montrant les limites de sulfure d'hydrogène qu'*E. estuarius* peut tolérer dans l'eau de porosité ou dans l'eau surnageante (c'est-à-dire les CL 50 mesurées dans l'eau seulement).

Historique des performances des témoins

Les laboratoires canadiens et américains ont entrepris, avec cette espèce, de nombreux essais toxicologiques d'une durée de 10 jours, qui ont porté sur des sédiments, et des essais toxicologiques de référence, dans l'*eau seulement*, d'une durée de 96 h. Dans la plupart des cas, les taux moyens de survie au bout de 10 jours dans les sédiments témoins ont usuellement été d'au moins 90 %. En outre, les taux de survie après 96 h d'exposition à l'*eau seulement* dans des essais toxicologiques de référence ont habituellement été d'au moins 90 %. C'est pourquoi on considère qu'un taux moyen minimal de survie après 10 jours d'au moins 90 % dans le sédiment témoin et des taux de survie après 96 h d'au moins 90 % dans l'eau témoin ou l'eau de dilution utilisée dans les essais toxicologiques de référence constituent des limites de base facilement accessibles et convenables pour les critères de validité des essais toxicologiques de référence et des essais toxicologiques des sédiments employant *E. estuarius* (v. § 4.6 et section 5).

Annexe G

Amphiporeia virginiana — Limites connues de tolérance et d'emploi

Limites de tolérance à l'égard du toxique de référence

Depuis 1991, Le Laboratoire de la région de l'Atlantique d'Environnement Canada a entrepris des essais toxicologiques de référence dans l'eau seulement pour déterminer la CL 50 après 96 h pour chaque groupe d'*Amphoporeia virginiana* capturés sur le terrain et utilisés dans des essais toxicologiques des sédiments d'une durée de 10 jours. Il a reporté les résultats de ces essais (*n* = 18), effectués à 10 °C, conformément à Environnement Canada (1992), sur une carte de contrôle en y délimitant une zone de confiance (moyenne géométrique ± 2 σ ; Doe, 1997). Ces valeurs (tableau G.1) devraient aider les laboratoires inexpérimentés à sélectionner la gamme convenable de concentrations d'essai pour entreprendre les essais toxicologiques de référence avec cette espèce ; elles ont également utiles aux comparaisons. On n'a pas trouvé d'autres rapports montrant la tolérance d'*A. virginiana* au cadmium dans des essais de détermination de la CL 50 dans l'eau seulement, d'une durée de 96 h, effectués dans d'autres laboratoires.

Limites de tolérance et d'emploi pour la salinité

Wade et Doe (1992) ont examiné la tolérance d'*A. virginiana* à l'égard de différents taux de salinité, à la faveur d'une série d'essais de mesure de la survie de l'organisme dans l'eau seulement, d'une durée de 10 jours. Le taux moyen de survie au bout de 10 jours était de 100 %, aux taux de salinité de 30 et de 25 ‰, en moyenne, et de 80 % aux taux de salinité de 20 et de 15 ‰ en moyenne. Seulement deux sujets sur 10 (20 %) ont survécu à 10 jours d'exposition à 11 ‰ de salinité ; tous les amphipodes exposés à une salinité moyenne de 5 ‰ ou à une salinité nulle sont morts au cours de l'essai de 10 jours. On a aussi capturé des *A. viginiana* dans des endroits où la salinité de l'eau de porosité des sédiments atteignait 35 ‰ (Doe et Jackman, 1998). Aucune autre étude n'est disponible sur la tolérance de l'espèce à l'égard de la salinité.

D'après les constatations de Wade et Doe (1992) et de Doe et Jackman (1998), il est évident qu'*A. virginiana* tolère des taux de salinité allant de 15 à 35 ‰ et qu'il ne tolère pas celle de moins de 15 ‰.

Dans la présente méthode, on fixe à l'emploi d'*A. virginiana* une limite de 15 à 35 ‰ de salinité dans l'eau de porosité (v. tableau G.1 et § 4.6). On doit évaluer la toxicité d'une matière d'essai dont la salinité de l'eau de porosité est inférieure à 15 ‰ au moyen d'une autre espèce tolérante à l'eau peu salée (p. ex. *Eohaustorius estuarius* ; v. annexe F).

Limites de tolérance aux fortes teneurs en matières organiques

On ne dispose d'aucune étude employant des sédiments reconstitués qui montrent l'effet d'une forte teneur en carbone organique sur le taux de survie de l'espèce au bout de 10 jours. Les résultats des essais avec des sédiments de référence non contaminés prélevés sur le terrain ne sont

Tableau G.1. — Limites connues de tolérance et d'emploi d'*Amphiporeia virginiana* dans les essais de mesure de la toxicité d'un sédiment d'une durée de dix jours

Paramètre	Limites connues de tolérance	Limites d'emploi
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, du toxique de référence (mg de Cd/L)	2,0 (0,9 à 4,9)[a]	
Salinité de l'eau de porosité (‰)	15 à 35 ‰	doit être de 15 à 35 ‰
Sédiment très grossier (%)[b]		0 à 100 ‰ est acceptable
Sédiment fin (%)[c]		doit être < 90 ‰
Argiles (%)[d]		doit être < 35 ‰
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, de l'ammoniaque totale (mg de N/L)	151 (121 à 181)[e]	
CL 50 après 96 h, dans l'eau seulement, de l'ammoniac non ionisé (mg de N/L)	1,1 (1,0 à 1,3)[e]	
CL 50 après 10 j, dans l'eau de porosité, de l'ammoniaque totale (mg de N/L)	24,6 (21,2 à 28,0)[e]	
CL 50 après 10 j, dans l'eau de porosité, de l'ammoniac non ionisé (mg de N/L)	0,1 (0,1 à 0,2)[e]	
Sulfure d'hydrogène de l'eau de porosité (mg/L)	inconnues	

a. Moyenne géométrique (± 2 σ) de 18 essais effectués au Laboratoire de la région de l'Atlantique d'Environnement Canada.
b. Pourcentage de particules de plus de 1,0 mm dans la matière d'essai.
c. Pourcentage de particules de moins de 0,063 mm dans la matière d'essai (c'est-à-dire le pourcentage de limons et d'argiles).
d. Pourcentage de particules de moins de 0,004 mm dans la matière d'essai.
e. Entre parenthèses, les limites de confiance à 95 % de la CL 50 ; d'après les concentrations dosées (azote ammoniacal total) et calculées à partir des concentrations dosées (azote ammoniacal non ionisé ; Bower et Bidwell, 1978). D'après Tay *et al.* (1998).

pas parlants à cet égard ; il n'existe aucun rapport sur le taux de survie, au bout de 10 jours, d'*A. virginiana* exposé à des échantillons refermant plus de 2 % de carbone organique. Les études avec des préparations du commerce de sable de silice (Tay *et al.*, 1998) montrent qu'*A. virginiana* peut bien survivre pendant 10 jours en l'absence de toute teneur appréciable en carbone organique.

On sait qu'*A. virginiana* peut tolérer 2 % ou moins de carbone organique totale dans les échantillons de matière d'essai, mais on ne connaît pas la limite supérieure qui peut être tolérée sans diminuer sa survie au bout de 10 jours. Aucune limite d'emploi relative au carbone organique total ne semble nécessaire ou appropriée.

Limites de tolérance et d'emploi pour la granulométrie

Les études de Tay *et* al. (1998) ont montré qu'A. *virginiana* tolère très bien les sédiments grossiers. Dans des essais employant diverses préparations de sable de silice, Tay *et al.* (1998) ont constaté un taux moyen de survie après 10 jours de 94 % dans un échantillon constitué d'environ 92 % d'un sédiment très grossier (c'est-à-dire de plus de 1,0 mm). Cette espèce a également bien survécu (95 % de survie après 10 jours, en moyenne) dans une matière constituée à 96,5 % de sédiment grossier (c'est-à-dire de plus de 0,25 mm) [Tay *et al.*, 1998]. Vu la grande tolérance de l'espèce à l'égard des matières grossières, aucune limite d'emploi de l'espèce à l'égard des matières très grossières (c'est-à-dire de plus de 1,0 mm) n'est nécessaire ni appropriée (v. § 2.6).

Les essais employant des préparations du commerce de matières fines et de sédiments fins prélevés sur le terrain montrent que l'espèce tolère mal un pourcentage élevé de matières fines (c'est-à-dire de moins de 0,063 mm). Tay *et al.* (1998) ont observé des taux moyen de survie après 10 jours d'au plus 66 % dans des groupes subdivisés d'*A. virginiana* gardés dans des mélanges du commerce de sables, de limons et d'argiles constitués d'au moins 36 % d'argiles et de 50 à 99 % de matières fines. En outre, Tay *et al.* (1998) ont signalé un taux moyen de survie après 10 jours d'à peine 56 % chez des groupes subdivisés gardés dans un sédiment de référence prélevé sur le terrain qui renfermait 17 % d'argiles et 82 % de matières fines. Les essais effectués sur des sédiments prélevés sur le terrain ont mis en évidence une tolérance quelque peu plus grande de l'espèce à l'égard de certains échantillons renfermant un fort pourcentage de matières fines et/ou d'argiles (Doe, 1998). Compte tenu de toutes les données disponibles qui montrent les taux moyens de survie après 10 jours dans un sédiment reconstitué et dans un sédiment prélevé sur le terrain et renfermant des pourcentages différents, mais élevés, de matières fines et/ou d'argiles et conformément à la recommandation ultérieure de Doe (1998), on limite dans le présent rapport l'emploi d'*A. virginiana* aux milieux renfermant moins de 90 % de matières fines (v. tableau G.1 et § 2.6). En outre, une deuxième limite d'emploi fixée à moins de 35 % d'argile semble raisonnable et doit être appliquée dans le cadre de la présente méthode de référence. Il ne faut donc pas employer *A. virginiana* dans une matière d'essai renfermant au moins 90 % de matières fines et/ou au moins 35 % d'argiles pour les essais toxicologiques des sédiments d'une durée de 10 jours, selon la présente méthode de référence. Il faut plutôt utiliser une autre espèce, plus tolérante à l'égard des sédiments fins (p. ex. *Eohaustorius estuarius* ; v. annexe F), à la condition que sa granulométrie se situe dans les limites d'emploi de cette espèce.

Limites de tolérance à l'ammoniaque

Sims et Moore (1995a) ont entrepris une étude bibliographique des concentrations d'ammoniaque dans l'eau de porosité des sédiments de même que de la toxicité connue de l'ammoniaque pour les invertébrés et poissons marins et dulcicoles. Ils ont conclu que *la comparaison des concentrations signalées d'exposition et des concentrations efficaces porte à croire à un potentiel important de toxicité ammoniacale dans les dosages biologiques employant des déblais de dragage*.

Tay *et al.* (1998) ont mesuré la tolérance d'*A. virginiana* à l'ammoniaque dans un essai d'une durée de 96 h dans l'eau seulement et dans un essai d'une durée de 10 jours employant un sédiment enrichi. Dans chaque cas, on a calculé les CL 50, que l'on a exprimées en fonction des teneurs mesurées en ammoniaque totale et des teneurs calculées en ammoniac non ionisé (Bower et Bidwell, 1978). Les valeurs obtenues grâce à ces essais sont présentées dans le tableau G.1. Les résultats montrent que l'espèce tolère considérablement plus l'ammoniaque (c'est-à-dire en ammoniaque totale ou en ammoniac non ionisé) dans l'essai dans l'eau seulement que dans l'essai sur de l'eau de porosité et un sédiment enrichi (v. tableau G.1). Cette constatation ne correspond pas à celles qui ont été faites à l'égard de *R. abronius*, d'*E. washingtonianus* ou d'*E. estuarius*, dont la tolérance à l'ammoniaque dans les essais dans l'eau seulement d'une durée de 96 h et dans les essais dans un sédiment enrichi d'une durée de 10 jours était semblable (v. annexes D, E et F). On ne dispose d'aucune autre étude montrant la tolérance d'*A. virginiana* aux concentrations létales aiguës d'ammoniaque.

Pour ce qui concerne l'ammoniaque totale ou l'ammoniac non ionisé dans les matières d'essai, on n'impose aucune limite d'emploi (v. tableau G.1), vu que les concentrations d'ammoniaque dans les échantillons pourraient être élevées du fait de causes anthropiques et/ou naturelles et pourraient être un constituant toxique faisant partie intégrante des paramètres à examiner à l'aide de cette espèce et de cette méthode.

Limites de tolérance au sulfure d'hydrogène

Dans l'eau de porosité des sédiments, le sulfure d'hydrogène peut être présent à des concentrations toxiques pour les amphipodes et d'autres formes de vie benthiques (Sims et Moore, 1995b). D'après une étude bibliographique des concentrations mesurées de sulfure d'hydrogène dans l'eau de porosité et de sa toxicité connue pour les organismes marins ou dulcicoles, ces auteurs concluent que *la comparaison des concentrations signalées d'exposition et des concentrations efficaces porte à croire en la forte possibilité d'une toxicité attribuable au sulfure d'hydrogène dans les dosages biologiques portant sur les déblais de dragage*. Jusqu'à ce jour, cependant, on n'a obtenu aucune donnée définitive montrant les limites de sulfure d'hydrogène que *R. abronius* peut tolérer dans l'eau de porosité ou dans l'eau surnageante (c'est-à-dire les CL 50 mesurées dans l'eau seulement).

Historique des performances des témoins

Depuis mars 1991, le Laboratoire de la région de l'Atlantique d'Environnement Canada a réalisé 32 séries distinctes d'essais toxicologiques des sédiments d'une durée de 10 jours avec *A. virginiana*. Les taux moyens de survie au bout de 10 jours dans le sédiment témoin a été en

moyenne de 89,5 %. Dans 14 des 32 essais (44 %), les témoins n'ont pas atteint un taux de survie d'au moins 90 % ; dans 7 des 32 essais (22 %), ils ne sont pas parvenu à un taux de survie d'au moins 85 %. Cependant, dans 29 des 32 essais (91 %) le taux de survie chez les témoins a été d'au moins 80 % (Doe et Jackman, 1998). Compte tenu de ces antécédents, on considère qu'un taux moyen minimal de survie après 10 jours d'au moins 80 % dans le sédiment témoin constitue une limite de base facilement accessible et convenable pour un critère de validité des essais toxicologiques de référence et des essais toxicologiques des sédiments employant *A. virginiana* (v. § 4.6).

Conjointement avec les essais toxicologiques de sédiments à l'aide de cette espèce, le Laboratoire de la région de l'Atlantique d'Environnement Canada a entrepris 27 essais toxicologiques de référence dans l'eau seulement d'une durée de 96 heures avec *A. virginiana*, depuis juin 1991. Dans ces essais, les taux moyens de survie chez les groupes témoins ont été en moyenne de 97 %. Dans 22 des 27 essais (81 %), le taux de survie chez les témoins a été d'au moins 95 % et, dans un seul des essais (3,7 %), le taux de survie a été de moins de 90 % (Doe et Jackman, 1998). En raison de ces chiffres, on considère un taux minimal de survie de 90 % après 96 heures comme facilement accessible et comme une limite convenable de base pour un critère de validité d'un essai toxicologique de référence dans l'eau seulement employant *A. virginiana*.